



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

REZISTENȚA LA ANTIMICROBIENE: AMENINȚARE GLOBALĂ PENTRU SĂNĂTATEA PUBLICĂ

Chișinău, 2023



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

REZISTENȚA LA ANTIMICROBIENE: AMENINȚARE GLOBALĂ PENTRU SĂNĂTATEA PUBLICĂ



Chișinău, 2023

CZU: 615.28:614.2

R 49

Approbat la ședința *Consiliului de Management al Calității al USMF „Nicolae Testemițanu”*, proces-verbal nr. 02 din 29 noiembrie 2023

Approbat la ședința *Comisiei științifico-medodice de profil Medicina comunitară*, proces-verbal nr. 1 din 01 din 27 octombrie 2023

Approbat la ședința *Departamentului de Medicină Preventivă*, proces-verbal nr. 03 din 20 octombrie 2023

Autori coordonatori:

Alina Ferdohleb, Elena Ciobanu, Cătălina Croitoru

Autori:

Larisa Spinei, Elena Raevschi, Alina Ferdohleb, Elena Ciobanu, Cătălina Croitoru, Doina Macari, Mihail Todiraș, Corina Scutari, Victoria Bologan, Maria Curteanu, Lucia Galben, Greta Bălan, Cornelia Lazăr, Olga Tagadiuc

Recenzenți:

Stela Adauji, dr. șt. farm., conf. univ., Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin”

Luminița Guțu, dr. șt. med., conf. univ., Departamentul medicină preventivă, Disciplina de epidemiologie

Carolina Lozan-Tîrșu, dr. șt. med., conf. univ., Departamentul medicină preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie

Ghidul este destinat rezidenților și medicilor specialiști din domeniul Sănătății Publice.

Ghidul a fost realizat cu suportul proiectului multilateral 22.80013.8007.1M „Phage treatment and wetland technology as intervention strategy to prevent dissemination of antibiotic resistance in surface waters (PhageLand)” din cadrul JPIAMR-ACTION 2021 (2022-2025), Coordonator național Alina Ferdohleb.



Servicii editorial-poligrafice:

Tipografia „PRINT-CARO”, mun. Chișinău, str. Columna, 170

email: printcaro@gmail.com

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții din Republica Moldova

Rezistența la antimicrobiene: amenințare globală pentru sănătatea publică / autori coordonatori: Alina Ferdohleb, Elena Ciobanu, Cătălina Croitoru ; Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. – Chișinău : [S. n.], 2023 (Print-Caro). – 144 p. Aut. indicați pe verso f. de tit. – Bibliogr.: p. 119-144 (212 tit.). – [200] ex.

ISBN 978-9975-175-73-9.

CUPRINS

ABREVIERI	4
INTRODUCERE	6
CAPITOLUL 1. Antibio rezistența: generalități, răspândirea, noțiuni și termeni (<i>Larisa SPINEI</i>)	8
CAPITOLUL 2. Sistemul de supraveghere globală a rezistenței antimicrobiene și consum: strategii și arii de dezvoltare în termeni de Sănătate Publică (<i>Elena RAEVSCHI</i>)	26
CAPITOLUL 3. Fenomenul rezistenței la antimicrobiene în țările cu venituri mici și medii (<i>Alina FERDOHLEB</i>).....	36
CAPITOLUL 4. Considerații privind managementul și utilizarea preparatelor antimicrobiene de către lucrătorii medicali (<i>Elena CIOBANU, Cătălina CROITORU, Alina FERDOHLEB</i>).....	50
CAPITOLUL 5. Cartografierea utilizării antibioticelor în Republica Moldova (<i>Doina MACARI, Mihail TODIRĂȘ, Corina SCUTARI</i>)	57
CAPITOLUL 6. Avertizare pentru umanitate: antibio rezistența și schimbările climatice (<i>Cătălina CROITORU</i>).....	67
CAPITOLUL 7. Rezistența la antibiotice în mediul acvatic: impactul asupra apei potabile (<i>Elena CIOBANU, Victoria BOLOGAN, Maria CURTEANU</i>).....	76
CAPITOLUL 8. Utilizarea bacteriofagilor în practica medicală ca o alternativă la terapia antimicrobiană (<i>Greta BĂLAN, Lucia GALBEN</i>).....	88
CAPITOLUL 9. Relația dintre stresul oxidativ și fenomenul de rezistență la antibiotice (<i>Cornelia LAZĂR, Olga TAGADIUC</i>)	107
BIBLIOGRAFIE	119

ABREVIERI

ADN	acidul dezoxiribonucleic
AMDM	Agencia Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale
ATP	adenozin trifosfat
BSAC	<i>eng.</i> – British Society for Antimicrobial Chemotherapy
CAM	consumul antimicrobian
CA-SFM	<i>fr.</i> – Comite de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAT	catalaza
CDC	<i>eng.</i> – Center for Disease Control and Prevention Centrul pentru Prevenirea și Controlul Bolilor
CAESAR	<i>eng.</i> – Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance
CLSI	<i>eng.</i> – Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	concentrație minim inhibitorie
EAR	<i>eng.</i> – Emerging Antimicrobial Resistance
ESBL	betalactamazice cu spectru extins
HIC	<i>eng.</i> – High-Income Country
EARS-Net	<i>eng.</i> – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
ECDC	<i>eng.</i> – European Centre for Disease Prevention and Control
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa și Enterobacter spp.</i>
FAO	<i>eng.</i> – Food and Agriculture Organization of the United Nations
DDD	<i>eng.</i> – Daily Defined Dose
DIN	<i>ger.</i> – Deutsches Institut für Normung
DOT	<i>eng.</i> – Directly Observed Therapy
GAP-AMR	Planul global de acțiuni privind rezistența antimicrobiană
GPO	glutation peroxidaza
GR	glutation reductaza
GSH	glutation redus
GSSG	glutation oxidat
EUCAST	<i>eng.</i> – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HIV	<i>eng.</i> – Human Immunodeficiency Virus

GLASS	<i>eng.</i> – Global Antimicrobial rezistence and use Sureveillance System
IPCh	infecție plăgii chirurgicale
IMSP	Instituție Medico-Sanitară Publică
ITU	infecție a tractului urinar
LMIC	<i>eng.</i> – Low and Middle-Income Country
LED	diode electroluminiscente
LOT	durata terapiei
MDR	<i>eng.</i> – Multidrug Resistance
MRSA	<i>eng.</i> – Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
ODD	Obiectivele de Dezvoltare Durabilă
OIE	<i>eng.</i> – Office International des Epizooties (World Organisation for Animal Health)
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
ONU	Organizația Națiunilor Unite
PCR	<i>eng.</i> – Polymerase Chain Reaction
PDD	<i>eng.</i> – Prescribed Daily Dose
PIB	produs intern brut
PChA	profilaxia chirurgicală cu antibiotice
RAM	rezistența la antimicrobiene
ReLAVRA	Rețeaua Latino-Americană pentru Supravegherea Rezistenței Antimicrobiene
ROS	specii reactive de oxigen
RRP	receptori de recunoaștere a paternului
UE	Uniunea Europeană
UNEP	<i>eng.</i> – United Nations Environment Programme
USMF	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
UV	radiații ultraviolete
SEE	Spațiul Economic European
SOD	superoxid dismutaza
SOS	stresul oxidativ
TSA	testarea susceptibilității la antibiotice
ȚVM	țări cu venituri mici
VNB	venit național brut
VRSA	<i>Staphylococcus Aureus</i> rezistent la vacomicină
WHO	<i>eng.</i> – World Health Organization

INTRODUCERE

În societatea contemporană, o necesitate crescândă este accesul la informație științifică. Orice acțiune în mediul social sau natural, indiferent de natura sa - fie economică, socială sau politică, necesită o fundamentare solidă pe baza informațiilor științifice. Acest ghid a fost elaborat cu contribuții din partea cercetătorilor proiectului transnațional *PhageLand*. Autorii s-au concentrat pe lucrări științifice de înaltă calitate, folosind cele mai relevante referințe bibliografice din domeniul abordat. Așadar, această lucrare poate reprezenta o resursă de documentare actualizată, recomandată în special cercetătorilor și medicilor specialiști din sănătatea publică.

Una dintre cele mai semnificative probleme de sănătate globală este rezistența la antimicrobiene (RAM), exemplificând abordarea „O singură sănătate”. Această abordare reprezintă efortul comun al diferitelor discipline pentru a oferi soluții în domeniul sănătății umane, animale și mediului. RAM reprezintă o problemă critică la nivel global, afectând sănătatea umană, mediul și animalele. Deoarece este o problemă complexă, este crucial să o analizăm într-o manieră holistică, încadrând-o în abordarea „O singură sănătate”.

Abordarea „O singură sănătate” este complet integrată în eforturile globale de abordare a problemei RAM. Printre numeroasele obstacole de depășit se numără interesele divergente ale mai multor sectoare economice și organizații implicate în sănătatea animală, umană și a mediului. Acești actori trebuie să ajungă la un consens cu privire la prioritățile cheie de acțiune, cele mai bune modalități de monitorizare a RAM și politicile care ar trebui să reglementeze utilizarea de antimicrobiene.

Creșterea amenințării reprezentate de rezistența la antibiotice necesită o abordare „O singură sănătate”, deoarece bacteriile rezistente, elementele genetice și antibioticele se găsesc în mediul uman, animal și în cel natural. Reducerea eficacității antibioticelor existente, împreună cu lipsa de antibiotice noi și eficiente, subliniază urgența de a înțelege mecanismele de apariție și transmitere a rezistenței la antibiotice. Planul de acțiune european „O singură sănătate” încurajează Uniunea Europeană și statele membre

să ofere răspunsuri inovatoare, eficiente și sustenabile la RAM, în special pentru a reduce apariția și răspândirea acesteia în interiorul și în afara UE.

Proiectul transnațional multilateral *PhageLand* își propune să dezvolte o nouă strategie de intervenție: combinarea capacității de tratare pasivă și ecologică a apelor uzate, folosind zone umede construite, cu un tratament specializat bazat pe bacteriofagi pentru a preveni transmiterea rezistenței la antibiotice din apele uzate în apele de suprafață. *PhageLand* include investigații de sănătate publică care se concentrează pe agenții patogeni bacterieni multirezistenți la medicamente în țările cu venituri medii scăzute din Europa de Est. Tratamentul bazat pe bacteriofagi va fi adaptat special pentru a elimina acești agenți patogeni multirezistenți la medicamente din apele uzate. În același timp, *PhageLand* își propune să evalueze capacitatea de auto-purificare a zonelor umede construite la scară largă din Spania și Republica Moldova în eliminarea reziduurilor de antibiotice și a genelor de rezistență la antibiotice și riscul potențial asociat cu răspândirea rezistenței la antibiotice în comunitățile bacteriene indigene și printre animalele care trăiesc în zonele umede construite.

În final, sperăm ca această lucrare să ofere publicului interesat nu doar informații utile, ci și o lectură interesantă și plăcută.

Autorii coordonatori

CAPITOLUL 1.

ANTIBIOREZISTENȚA: GENERALITĂȚI, RĂSPÂNDIREA, NOȚIUNI ȘI TERMENI

Larisa SPINEI, dr. hab. șt. med., prof. univ.,
Catedra de medicină socială și management „Nicolae Testemițanu”

Rezistența la antimicrobiene (RAM) și la antiparazitare (RAP) reprezintă o amenințare pentru medicina modernă. Numai medicamentele antimicrobiene eficiente fac posibile măsurile preventive și curative, protejând pacienții de boli potențial letale.

În 2019, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a declarat RAM drept una dintre cele zece amenințări la adresa sănătății publice la nivel mondial cu care se confruntă umanitatea. În iulie 2022, Comisia Europeană, împreună cu statele membre, a identificat RAM ca una dintre cele trei amenințări prioritare la adresa sănătății în UE.

Scurt istoric. În era preantibiotică, deși sistemul imun al organismului uman putea învinge multe dintre infecțiile bacteriene, în unele boli infecțioase perdant era omul. Astfel, 90% din copiii cu meningită bacteriană mureau, iar cei care supraviețuiau rămâneau cu sechele serioase (surditate, retard mental, epilepsie etc.); infecțiile streptococice aveau, de cele mai multe ori, o evoluție fatală prin complicațiile severe pe care le produceau; tusea convulsivă și difteria determinau epidemii cu îmbolnăviri grave, urmate de multe ori de deces.

În timpuri mai vechi, în lupta cu bolile infecțioase au fost folosite diferite substanțe cu acțiune antibacteriană. Grecii și indienii foloseau în acest scop mușcături și unele plante; în Serbia și în Grecia era utilizată pâinea mușcăită; în unele țări se folosea pământ cald pentru tratarea infecțiilor cutanate; sumerienii utilizau un amestec din bere și supă de cochilie de broască-țeastoasă pentru tratarea unor boli etc.

Din secolul al XVII-lea încep să fie folosite mucegaiurile în lupta cu infecțiile, iar în secolul al XIX-lea apar rezultatele primelor cercetări a acțiunii antibacteriene a unor ciuperci precum *Penicillium glaucium* (Joseph Lister, în 1871), *Penicillium fungus* (John Tyndall, în 1875). În 1877, Louis Pasteur postulează că unele bacterii pot omorî alte bacterii. În 1921, Alexander Fleming descoperă lizozimul, iar în 1928 o substanță antibacteriană obținută din *Penicillium notatum*. Pentru această descoperire, care a revoluționat științele medicale, în 1944, Alexander Fleming a fost înnoobilat cu titlu de „Sir“, iar în 1945 Fleming, Florey și Chain au împărțit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină.

Farmacologul Howard Florey și biochimistul Ernst Boris Chain au reușit să purifice și să producă pe scară largă penicilina – primul antibiotic introdus pe piață în 1942 și care a salvat mii de vieți, fiind considerat medicamentul-miracol al secolului XX. În anii 1940 și 1950 au fost descoperite streptomicina, cloramfenicolul și tetraciclina.

Termenul de antibiotic, care își are etimologia de la grecescul *anti* – împotriva și *biotikos/bios* – viață, ceea ce în cazul nostru înseamnă împotriva microbilor, a fost introdus de Selman Waksman în 1942. În prezent, termenul este utilizat pentru a descrie o substanță care omoară sau inhibă creșterea bacteriană.

De-a lungul evoluției producerii antibioticelor s-au succedat două definiții ale antibioticelor.

Definiția veche – substanțe de origine biologică, obținute din diferite specii de microorganisme, care sunt capabile, în concentrații mici, să omoare sau să inhibe creșterea altor microorganisme.

Definiția nouă – substanțe similare celor obținute dintr-un microorganism, realizate parțial (semisintetic) sau în întregime (sintetic) prin sinteză chimică și care, în concentrații mici, omoară sau inhibă creșterea bacteriană.

Clasificarea antibioticelor

1. *În funcție de acțiune:* bactericide și bacteriostatice.

Antibioticele bactericide omoară bacteriile, interferând cu formarea peretelui celular al bacteriei sau cu formarea conținutului celular al acesteia. Din acest grup fac parte penicilina, fluorochinolonele, metronidazolul, nitrofurantoina, cotrimoxazolul.

Antibioticele bacteriostatice stopează multiplicarea bacteriilor fără să le omoare, interferând cu sinteza proteică bacteriană, replicarea ADN-ului sau cu alte aspecte ale metabolismului celulei bacteriene. Acțiune bacteriostatică manifestă tetracilinele, sulfonamidele, trimetoprimul, cloramfenicolul, macrolidele și lincozamidele.

2. *În funcție de spectrul de activitate:* antibiotice cu spectru larg și cu spectru redus.

Antibioticele cu spectru larg sunt active atât față de microorganismele gram-pozitive, cât și față de cele gram-negative, și sunt indicate în tratamentul infecțiilor polimicrobiene (infecții abdominale cu germeni anaerobi). Antibiotice cu spectru larg sunt tetracilinele, fenicolii, fluorochinolonele, cefalosporinele de generația a 3-a și a 4-a.

Antibioticele cu spectru redus au activitate limitată și sunt utilizate numai la combaterea unei anumite specii bacteriene, de exemplu într-o infecție cutanată stafilococică. Spectru redus de activitate au glicopeptidele și bacitracina, eficiente numai față de bacteriile gram-pozitive; polimixinele sunt eficiente numai față de bacteriile gram-negative; aminoglicozidele și sulfonamidele combat microorganismele aerobe, iar nitroimidazolii – microorganismele anaerobe.

3. *În funcție de modul de acțiune asupra bacteriei sau în cadrul procesului fiziologic:*

- antibiotice active pe peretele bacterian;
- antibiotice active pe membrana citoplasmatică;
- antibiotice active asupra sintezei proteice;
- antibiotice active asupra replicării acizilor nucleici;
- inhibitori ai altor procese metabolice.

Răspândirea fenomenului de antibierezistență la nivel global

Conform OMS, RAM a atins cote alarmante în mai multe regiuni ale lumii. Niveluri crescute ale RAM au fost înregistrate la bacteriile asociate cu numeroase infecții comune (infecții ale tractului urinar, pneumoniile, tuberculoza și gonoreea) în toate regiunile OMS. Crește și rezistența la medicamentele antivirale, antimalarice, antifungice, precum și la cele utilizate pentru tratarea HIV, precum și la alte categorii de medicamente.

În Uniunea Europeană (UE), RAM este o povară socială și economică gravă cauzând anual 25 de mii de decese. La nivel mondial, RAM se face responsabil de 700 de mii de decese, iar lipsa acțiunilor ar putea duce la creșterea substanțială a acestei cifre. Potrivit estimărilor, până în 2050 RAM vor cauza mai multe decese decât cancerul.

RAM determină creșterea perioadei de tratament, a complexității rezolvării cazului de îmbolnăvire și a costurilor. La nivelul UE se estimează că RAM implică 1,5 miliarde de euro anual sub formă de costuri medicale. Banca Mondială a avertizat că până în 2050 infecțiile rezistente la antimicrobiene ar putea cauza daune economice globale echivalente cu cele produse de criza financiară din 2008.

Costurile anuale pentru serviciile de asistență medicală, atât în sectorul public, cât și privat, se vor majora din cauza creșterii incidenței bolilor rezistente la antimicrobiene și până în anul 2050 ar putea depăși nivelul de bază cu circa 25% în țările cu venituri mici, cu 15% în țările cu venituri medii și cu 6% în țările cu venituri mari.

Rezistența antimicrobiană poate influența negativ atingerea unor astfel de obiective globale privind dezvoltarea durabilă către anul 2030 precum:

- eliminarea sărăciei
- reducerea foametei
- asigurarea unei vieți sănătoase
- reducerea inegalității
- revitalizarea parteneriatelor de dezvoltare globală

Utilizarea abuzivă și excesivă sistematică a antimicrobienelor a pus în pericol sănătatea omenirii. Fără o acțiune armonizată și imediată la scară

globală, lumea se îndreaptă către era post-antibiotic în care infecțiile comune ar putea ucide din nou.

Impactul rezistenței la antimicrobiene asupra sărăciei este deosebit de important: până în anul 2030, preponderent în țările cu venituri mici, 24 de milioane de persoane ar fi forțate să se confrunte cu sărăcia extremă.

Planul global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene

Acest plan de acțiune subliniază necesitatea unei abordări eficiente „O singură sănătate”, care să implice coordonarea între numeroase sectoare și actori internaționali, inclusiv medicina umană și veterinară, agricultura, finanțele, mediul și consumatorii bine informați.

Dr. Margaret Chan, Director-General al *Organizației Mondiale a Sănătății* susține că *Planul global de acțiune* abordează atât resursele pe care națiunile trebuie să le aloce pentru combaterea rezistenței antimicrobiene, cât și factorii economici care descurajează dezvoltarea produselor de înlocuire a antimicrobienelor de către industria farmaceutică. Pentru a aborda rezistența la antimicrobiene la nivel politic este nevoie de un efort comun, de aceea OMS va colabora cu ONU. Pentru monitorizarea și evaluarea națională a activităților în acest domeniu sunt în curs de dezvoltare planuri naționale de acțiune multisectoriale.

Rezistența antimicrobiană este o criză care trebuie gestionată cât mai urgent posibil. Pe măsură ce lumea intră în era dezvoltării durabile, nu ne putem permite ca victoriile obținute cu greu pentru sănătate să fie erodate de eșecul nostru privind medicamentele de bază – antimicrobienele.

Scopul *Planului global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene* este de a asigura continuitatea tratamentului de succes și a prevenirii bolilor infecțioase cu medicamente de calitate, utilizate într-un mod responsabil și accesibil tuturor celor care au nevoie de ele. Toate țările își vor dezvolta propriile planuri naționale de acțiune privind rezistența antimicrobiană în conformitate cu acest Plan global.

Pentru atingerea acestui deziderat, în Planul global de acțiune sunt stipulate cinci obiective strategice.

OBIECTIVE STRATEGICE

- O1. Îmbunătățirea gradului de conștientizare și de înțelegere a rezistenței antimicrobiene prin comunicare eficientă, educație și antrenament.
- O2. Consolidarea cunoștințelor pe bază de dovezi obținute prin supraveghere și cercetare.
- O3. Reducerea incidenței de infectare prin salubritate, igienă și măsuri de prevenție.
- O4. Optimizarea utilizării medicamentelor antimicrobiene în sănătatea umană și animală.
- O5. Justificarea economică a investițiilor durabile în sănătatea umană în corelație cu nevoile tuturor țărilor, creșterea investițiilor în noi medicamente, echipamente de diagnosticare, vaccinuri și alte intervenții în sănătatea umană.

Obiectivul 1. Trebuie luate imediat măsuri pentru a crește gradul de conștientizare a rezistenței antimicrobiene și promovarea schimbării de comportament prin comunicare publică, programe care vizează sănătatea umană și animală, practica agricolă, precum și consumatorii. Includerea studierii agenților antimicrobieni și a rezistenței antimicrobiene în programele școlare în vederea conștientizării fenomenului de rezistență antimicrobiană de la o vârstă fragedă.

Promovarea rezistenței antimicrobiene ca o componentă de bază a educației profesionale, a educației în domeniul sănătății umane și animale va contribui la înțelegerea și conștientizarea corespunzătoare a acestui fenomen în rândul profesioniștilor.

Obiectivul 2. Acțiunile și investițiile pentru combaterea rezistenței antimicrobiene ar trebui să se bazeze pe o înțelegere clară a beneficiilor și a rentabilității acestora. Guvernele naționale, organizațiile interguvernamentale, agenții economici, profesioniștii în domeniul sănătății, organizațiile neguvernamentale și mediul academic au roluri importante în generarea acestor cunoștințe și transpunerea lor în practică.

Lichidarea lacunelor în ce privește incidența și prevalența rezistenței antimicrobiene umane, modelele geografice, modul în care aceasta se dez-

voltă și se răspândește între oameni și animale prin hrană, apă și mediul ambiant este importantă pentru dezvoltare de noi instrumente, politici și reglementări pentru a o contracara.

Obiectivul 3. Multe dintre cele mai grave și greu de tratat cazuri de maladii infecțioase rezistente la antibiotice apar în instituțiile medicale ca urmare a utilizării intensive a acestor medicamente. Dezvoltarea rezistenței antimicrobiene în astfel de situații poate fi și o consecință a măsurilor inadecvate de prevenire și de control a infecției.

Măsuri mai bune de igienă și de prevenire a infecțiilor sunt esențiale pentru limitarea dezvoltării și răspândirii infecțiilor rezistente la antimicrobiene. Combaterea eficientă a infecțiilor transmise prin sex neprotejat sau injectarea de droguri, precum și o mai bună salubritate, spălarea regulată a mâinilor, siguranța alimentelor și a apei trebuie să fie componentele de bază ale prevenirii bolilor infecțioase.

Vaccinarea, ca metodă eficientă de prevenire a infecțiilor, ar trebui încurajată. Imunizarea poate reduce rezistența antimicrobiană în trei moduri:

1. vaccinurile existente pot preveni bolile infecțioase ale căror tratament ar necesita medicamente antimicrobiene;
2. vaccinurile existente pot reduce prevalența infecțiilor virale, tratate adesea inadecvat cu antibiotice, și care pot genera dezvoltarea infecțiilor secundare care necesită tratament cu antibiotice;
3. dezvoltarea și utilizarea vaccinurilor noi poate preveni bolile care devin dificil de tratat sau sunt netratabile din cauza rezistenței antimicrobiene.

Utilizarea iresponsabilă a antibioticelor la animalele de fermă duce sigur la dezvoltarea în timp a rezistenței bacteriene la animale sau la persoanele care consumă carnea și subprodusele acestor animale. Dezvoltarea antibioretistenței este rezultatul utilizării abuzive și neraționale a antibioticelor, a folosirii lor ca biostimulatori, la conservarea alimentelor sau administrarea lor fără antibiogramă în cazul unor tulpini cu rezistență naturală sau dobândită.

Obiectivul 4. Dovezile că rezistența antimicrobiană este determinată de volumul de utilizare a agenților antimicrobieni sunt destul de convingă-

toare. Utilizarea excesivă a antibioticelor poate fi pusă pe seama prescrierilor în doze inadecvate, accesului liber prin vânzări la ghișeu și, mai recent, prin vânzări online răspândite pe larg în multe țări, nerespectarea prescripțiilor medicale de către pacient și furnizor, prevalența medicamentelor substandard atât pentru om, cât și pentru animale și plante.

La nivel global, utilizarea antibioticelor la oameni, la animale și în agricultură este încă în ascensiune, iar creșterea preconizată a cererii pentru produse alimentare de origine animală o poate accelera. Datele privind utilizarea antibioticelor sunt colectate și analizate în majoritatea țărilor cu venituri mari și medii, dar lipsesc în cele cu venituri mici.

Deciziile de a prescrie antibiotice rareori sunt bazate pe diagnostice definitive, de aceea sunt necesare instrumente pentru diagnosticare eficientă, rapidă și cu costuri reduse în medicina umană și animală. *Prescrierea și eliberarea antibioticelor bazate pe dovezi ar trebui să fie standardul de îngrijire a bolnavilor cu boli infecțioase.*

Obiectivul 5. Justificarea economică a investițiilor durabile în sănătatea umană trebuie să reflecte capacitatea de dezvoltare, inclusiv în medii cu resurse reduse, și necesitatea utilizării intervențiilor bazate pe dovezi în sistemele de îngrijire a sănătății umane și animale, inclusiv asigurarea cu medicamente, cu echipamente de diagnostic și cu vaccinuri.

Sunt necesare evaluări mai clare ale impactului economic și a poverii socio-economice a rezistenței antimicrobiene și compararea lor cu costul și beneficiul acțiunilor de prevenire a acestui fenomen. Investiții în dezvoltarea de noi medicamente antimicrobiene, precum și în echipamente de diagnostic și vaccinuri este o necesitate urgentă.

Instituțiile medicale trebuie dotate cu echipamente de diagnostic a agenților microbieni pentru a permite practicienilor din domeniul sănătății și medicilor veterinari să aleagă antibioticul eficient împotriva unui anumit agent patogen. În prezent, aplicabilitatea și accesibilitatea acestor echipamente în țările cu venituri mici și medii lasă mult de dorit. Aceste obiective pot fi atinse prin implementarea de acțiuni identificate de către statele membre, de secretariat, de partenerii internaționali și naționali din mai multe sectoare.

Toate planurile naționale de acțiune de prevenire a rezistenței microbiene ar trebui să reflecte principiile prezentate în continuare.

(1) Angajamentul întregii societăți pe baza principiului „O singură sănătate”

Rezistența antimicrobiană afectează toți oamenii de pe planeta Pământ, indiferent de locul de trai, de sănătatea lor, de starea economică, de stilul de viață sau comportament. Mai mult de atât, este afectată nu numai sănătatea umană, dar și sănătatea animalelor, a plantelor, securitatea alimentară și dezvoltare economică. Prin urmare, toată lumea – din toate sectoarele și domeniile – ar trebui să fie implicată la punerea în aplicare a planului global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene și, în special, în eforturile de a menține eficacitatea medicamentelor antimicrobiene prin conservare și programe de administrare.

(2) Mai întâi prevenirea

Fiecare infecție prevenită este una care nu are nevoie de tratament. Prevenirea infecției poate fi costisitoare, însă implementarea ei este necesară pe scară largă, chiar și acolo unde resursele sunt limitate. Igiena și alte măsuri care pot încetini dezvoltarea infecțiilor rezistente la antibiotice și limita răspândirea celor dificil de tratat sunt „cel mai bun cumpărător”.

(3) Acces

Menținerea capacității de a trata infecțiile grave necesită acces echitabil atât la utilizarea adecvată a antimicrobienele existente, cât și la cele noi. Implementarea eficientă a planului național și global de prevenire a rezistenței antimicrobiene depinde și de accesul la unități de sănătate, la îngrijire medicală profesională, la medici veterinari, la tehnologii preventive, la echipamente de diagnostic, inclusiv la cele care sunt „punctul de îngrijire”, la cunoaștere, la educație și la informare.

(4) Sustenabilitate

Toate țările ar trebui să aibă un plan național de acțiune privind rezistența la antimicrobiene care să includă și evaluarea necesarului de resurse. Implementarea acestor planuri va necesita investiții pe termen lung pentru: supraveghere, cercetare operațională, laboratoare, sisteme de sănătate umană și animală, capacități de reglementare competente, educație și

formare profesională atât în sănătatea umană, cât și în cea animală. Angajamentul politic presupune colaborarea internațională pentru promovarea investițiilor tehnice și financiare necesare în vederea eficientizării dezvoltării și implementării planurilor naționale de acțiune privind rezistența la antimicrobiene.

(5) *Ținte incrementale pentru implementare*

Statele lumii se află în stadii foarte diferite în ceea ce privește dezvoltarea și implementarea planurilor naționale de combatere a rezistenței antimicrobiene. Pentru a permite tuturor țărilor să profite la maximum de progresele înregistrate în implementarea planului global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene, este necesar de a determina acțiunile prioritare care trebuie luate pentru a atinge cele cinci obiective strategice și de a le implementa pas cu pas pentru a satisface atât nevoile locale, cât și prioritățile globale.

Ce reprezintă rezistența microbiană la antibiotice?

Rezistența microbiană la antibiotice apare atunci când bacteriile reușesc să se adapteze, să rămână viabile și să se dezvolte în prezența unui antibiotic. Scăderea eficacității antibioticului asupra bacteriilor face ca infecțiile provocate de acestea să fie dificil sau chiar imposibil de tratat, crescând astfel riscul de răspândire a bolilor și ratele de morbiditate și de mortalitate asociate.

Rezistența microbiană la antibiotice poate fi *intrinsecă* sau *dobândită*.

Rezistența microbiană la antibiotice este capacitatea unui microorganism de a supraviețui și de a se multiplica în prezența unui agent antimicrobian (antibiotic) care, în mod normal, l-ar inhiba sau omorî.

Rezistența intrinsecă este capacitatea înnăscută a unei specii bacteriene de a rezista acțiunii unui antibiotic prin caracteristicile sale structurale și funcționale, care-i permit toleranța față de un antibiotic sau o clasă de antibiotice.

Cauzele rezistenței intrinseci sunt:

I. Lipsa afinității unui antibiotic față de ținta bacteriană.

II. Inaccesibilitatea antibioticului în celula bacteriană.

III. Expulzarea antibioticului de către exportatorii activi codificați cromozomial.

IV. Sinteza înnăscută a unor enzime care inactivează specific antibioticele.

Rezistența intrinsecă este un tip de rezistență naturală codificată și exprimată de toate tulpinile care aparțin aceleiași specii bacteriene, fiind programată în genomul bacterian și constituind un criteriu de identificare. În cazul rezistenței intrinseci se presupune că antibioticul nu a fost activ niciodată asupra microorganismului vizat (de exemplu, bacteriile gram-negative prezintă rezistență naturală la vancomicină, deoarece medicamentul nu poate penetra membrana externă a acestor bacterii). Exemple de rezistență intrinsecă sunt: rezistența naturală a anaerobilor la aminoglicozide, a bacteriilor aerobe la metronidazol, a bacteriilor gram-negative la vancomicină.

Cunoașterea rezistenței intrinseci a unui agent patogen este foarte importantă în practica medicală pentru a evita terapiile incorecte și ineficiente.

Rezistența dobândită este fenomenul prin care o bacterie capătă abilitatea de a rezista activității unui agent antimicrobian, față de care anterior a fost sensibil.

Mecanismele prin care bacteriile dezvoltă rezistență pot fi reprezentate de:

- modificări la nivelul echipamentului genetic cromozomial (spontane și stabile);
- modificări la nivel plasmidic, cele mai frecvente, determinând fenomenul de
- *polirezistență* (multidrogrezistență);
- o combinație a primelor două mecanisme.

Spre deosebire de rezistența intrinsecă, rezistență dobândită au numai unele tulpini sau subpopulații din cadrul unei specii bacteriene. Exemple de rezistență dobândită sunt: I) rezistență dobândită prin mutații ale genelor – *M. tuberculosis* este rezistent la rifampicină, iar *E. coli*, *Hemophilus influenzae* – la trimetoprim etc.; II) rezistență dobândită prin transfer orizontal

de gene de rezistență – *S. aureus* este rezistent la meticilină (MRSA), iar *Enterococcus faecium* și *E. faecalis* – la vancomicină etc.

Rezistența bacteriană la antibiotice este o problemă complicată, mai ales în ultimele decenii, când ritmul de semnalare a acestui fenomen a crescut exponențial.

Rezistența microbiană și *ineficiența tratamentului* sunt strâns legate, dar prezintă fenomene diferite. Rezistența microbiană reprezintă răspunsul dat de microorganismele susceptibile la diferite concentrații de antibiotic, iar ineficiența terapeutică se referă la situațiile în care chiar și concentrațiile corecte de antimicrobiene pot depinde și de alți factori (selecția inadecvată a antibioticului) sau de gazdă (neutropenia, existența factorilor externi).

Cauzele apariției rezistenței microbiene

Utilizarea excesivă a antibioticelor

Atenționările cu privire la efectele negative ale utilizării excesive a antibioticelor au venit chiar de la Sir Alexander Fleming, la puțin timp de la descoperirea antibioticelor. Antibioticele sunt cele mai prescrise medicamente chiar și în infecțiile virale, unde nu au nici un efect. Studiile epidemiologice au evidențiat o relație directă între consumul de antibiotice și apariția, și diseminarea unor tulpini bacteriene rezistente.

În anul 2019, conform raportului realizat de Centrul European pentru Prevenirea și Controlul Bolilor (ECDC), România era al doilea cel mai mare consumator de antibiotice din Europa, fiind surclasată de Grecia.

Prescrierea inadecvată

Prescrierea incorectă a antibioticelor contribuie de asemenea la fenomenul de rezistență microbiană. Studiile efectuate au arătat că indicația de tratament, agentul antibiotic ales sau durata terapiei cu antibiotice sunt incorecte în 30-50% din cazuri. Expunerea bacteriei la concentrații subterapeutice de antibiotic favorizează apariția modificărilor genetice care duc la creșterea virulenței și a rezistenței microbiene.

Utilizarea în agricultură

Atât în țările dezvoltate, cât și în cele în curs de dezvoltare, antibi-

oticele sunt folosite pentru a preveni infecțiile la animale și ajung să fie ingerate de oameni prin consumul cărnii respective. Încă din anii 1970, antibioticele puteau fi găsite în carnea bovinelor, porcinelor și păsărilor, iar mai apoi și în sistemele de apă municipale și freatiche sau în sol.

Transferul bacteriilor rezistente de la animalele de fermă la oameni a fost documentat cu zeci de ani în urmă, când în flora intestinală a fermierilor și a animalelor de fermă au fost identificate tulpini de bacterii rezistente la antibiotice.

Scăderea numărului de antibiotice nou dezvoltate

Descoperirea unor noi antibiotice a fost o bună strategie de combatere a rezistenței microbiene în trecut, însă la moment cercetarea nu reușește să țină pasul cu evoluția rapidă a rezistenței microbiene. Conform raportului elaborat în 2020 de Organizația Mondială a Sănătății, în perioada 1 iulie 2017 și 1 septembrie 2020 la nivel mondial au fost aprobate 11 molecule noi de antibiotice. Dintre acestea, numai două aparțin unor clase structurale noi, în timp ce restul fac parte din clase deja cunoscute. Printre noile molecule aprobate și de Agenția Europeană a Medicamentului se numără vaborbactamul (în combinație cu meropenemul), cefiderocolul, lefamulina, eravaciclina și delafloxacina.

Proteina APOL3 sau „detergentul pentru bacterii”

La momentul întocmirii raportului de către OMS, erau în curs de dezvoltare 43 de antibiotice în studii clinice de fază 1-3, însă niciunul dintre acestea nu avea în vizor bacteriile gram-negative panrezistente. De asemenea, linia de dezvoltare a antibioticelor prezintă neajunsuri importante în ceea ce privește opțiunile terapeutice cu administrare orală pentru tratamentul infecțiilor cauzate de germeni rezistenți.

Impactul rezistenței microbiene la antibiotice

În anul 2019, povara globală a infecțiilor rezistente la antibiotice a fost de 4,95 milioane de decese, dintre care 1,27 de milioane au fost atribuite direct rezistenței la antibiotice. În Europa, rezistența la antimicrobiene a

fost corelată cu un cost de peste nouă miliarde de euro pe an. Conform Centrului de Control și Prevenție (CDC) din Statele Unite ale Americii, rezistența la antimicrobiene adaugă un cost suplimentar de 20 de miliarde de dolari la costurile asociate sistemului de sănătate.

Principalii agenți infecțioși vizați

În 2017, OMS a publicat lista de agenți patogeni prioritari, considerați o amenințare importantă pentru sănătatea umană. Publicarea acestei liste are rolul de a ghida procesul de cercetare și de dezvoltare a unor noi antibiotice, precum și de a motiva și mobiliza autoritățile în vederea elaborării unor politici de sănătate publică. Lista conține 12 agenți infecțioși, clasificați în funcție de prioritate.

Detectarea rezistenței la antibiotice

Testarea susceptibilității la antibiotice (TSA) a început încă de la descoperirea penicilinei, însă metodologia a evoluat în timp. În 1971 apar primele publicații ale OMS privind metodele de TSA, considerate mult timp „standardul de aur”. Însă probleme importante, valabile și în zilele noastre, sunt standardizarea, armonizarea, precum și înțelegerea metodologiilor și terminologiilor utilizate. În acest scop, o serie de organizații competente au furnizat metodologii de realizare a TSA (BSAC – *British Society for Antimicrobial Chemotherapy*, DIN – *Deutsches Institut für Normung*, CA-SFM *Comite de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*).

Organizațiile internaționale cele mai importante pentru reglementarea testării susceptibilității la antibiotice sunt: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, fost NCCLS) și *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Aceste organizații actualizează continuu ghidurile și recomandările, în conformitate cu care trebuie realizate procedurile pentru testarea susceptibilității la antibiotice. Obiectivele generale ale acestor comitete sunt de a oferi linii directoare semnificative pentru interpretarea clinică și epidemiologică a rezultatelor.

Pentru ca TSA să fie corect realizată, iar aplicarea rezultatelor eficien-

tă, trebuie îndeplinite o serie de condiții, reglementate în toate standardele naționale și internaționale de testare a susceptibilității la antibiotice:

- tulpina bacteriană care va fi testată trebuie să fie cu certitudine cea care a cauzat boala infecțioasă;
- agentul bacterian patogen trebuie să fie izolat în cultură pură;
- panelul de antibiotice față de care se face testarea trebuie să fie stabilit în conformitate cu standardul utilizat, fără a include antibioticele la care tulpina bacteriană este cunoscută ca având rezistență intrinsecă;
- laboratorul, în care se realizează testarea, trebuie să dispună de personal calificat, precum și de resursele materiale necesare;
- metoda de testare utilizată trebuie să fie standardizată;
- interpretarea rezultatelor trebuie să se facă conform standardului utilizat;
- comunicarea rezultatelor și interpretarea acestora trebuie făcută în timp eficient către utilizatorii finali.

- Prioritatea 1: critică

Acinetobacter baumannii – rezistent la carbapeneme.

Pseudomonas aeruginosa – rezistent la carbapeneme.

Enterobacteriaceae – rezistente la carbapeneme, producătoare de ESBL.

- Prioritatea a 2-a: înaltă

Enterococcus faecium – rezistent la vancomicină.

Staphylococcus aureus – rezistent la meticilină, intermediar, și rezistent la vancomicină.

Helicobacter pylori – rezistent la claritromicină.

Campylobacter spp. – rezistente la fluorochinolone.

Salmonella – rezistente la fluorochinolone.

Neisseria gonorrhoeae – rezistentă la cefalosporine și la fluorochinolone.

- Prioritatea a 3-a: medie

Streptococcus pneumoniae – nesuscetibil la penicilină.

Haemophilus influenzae – rezistent la ampicilină.

Shigella spp. – rezistente la fluorochinolone.

Interpretarea rezultatelor se rezumă, de obicei, la clasificarea tulpinii bacteriene ca fiind sensibilă (S), intermediară (I) sau rezistentă (R) la antibioticul testat. Însă trebuie amintit faptul că procedurile *in vitro* sunt numai aproximații ale condițiilor *in vivo*, care pot fi diferite în funcție de natura antibioticului, natura gazdei și condițiile în care are loc interacțiunea dintre antibiotic și agentul patogen.

Foarte important în realizarea acestei proceduri este controlul intern al calității, care include: standardizarea inoculului bacterian, condițiile culturii microbiene (mediul de cultură, pH-ul mediului, suplimentele de creștere), condițiile de incubare (atmosferă, temperatură, durată), concentrația antibioticului, utilizarea unor tulpini bacteriene de referință pentru controlul efectuării corecte a metodei de testare.

Există o varietate de metode prin care se poate determina rezistența la antibiotice a unei bacterii patogene: disc difuzia (antibiograma difuzimetrică), determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI) prin metoda diluțiilor în agar, a microdiluțiilor în bulion, difuzia în agar a unui gradient antimicrobian de pe un transportator din plastic (E test) și sisteme automate de testare.

Gestionarea fenomenul de rezistență la antibiotice

Rezistența microbiană la antibiotice este o problemă complexă ce necesită o abordare multisectorială, cu implicarea tuturor actorilor responsabili de sănătatea umană și animală. În acest sens, a fost dezvoltat conceptul de „utilizare rațională a antimicrobienulelor” (în engl. *antimicrobial stewardship*) care înglobează strategii de gestionare a rezistenței microbiene la antibiotice. Având în vedere durata lungă și complexitatea procesului de descoperire a unor noi antibiotice, utilizarea adecvată a celor existente reprezintă cea mai la îndemână soluție de gestionare a problemei rezistenței microbiene.

Echipă multidisciplinară pentru administrarea adecvată a antibioticelor. Pentru a putea pune în funcțiune sistemele și procedurile de utilizare rațională a antibioticelor, la nivelul fiecărei unități sanitare trebuie să existe o echipă multidisciplinară cu responsabilități specifice în acest sens.

Programul de utilizare rațională a antibioticelor include următoarele activități:

- monitorizarea și evaluarea prescrierii medicamentelor antibiotice;
- evaluarea relației dintre prescrierea antibioticelor și ratele locale de rezistență microbiană;
- întocmirea și actualizarea ghidurilor pentru tratamentul patologiilor infecțioase;
- oferirea regulată de feedback medicilor prescriptori;
- monitorizarea siguranței legate de utilizarea antibioticelor;
- organizarea unor sesiuni educaționale și de instruire pentru profesioniștii din domeniul sănătății cu privire la practicile de utilizare rațională a antibioticelor și la fenomenul de rezistență microbiană.

Diagnosticarea adecvată a patologiilor infecțioase. Patologiile infecțioase sunt, de regulă, patologii acute, iar rapiditatea cu care se inițiază tratamentul antibiotic influențează semnificativ eficacitatea, rezultatele și chiar rata de supraviețuire. Diagnosticarea corectă a patologiei infecțioase este esențială și pentru a evita administrarea antibioticelor în patologii de etiologie neinfecțioasă.

Confirmarea prezenței infecției și identificarea agentului patogen și a susceptibilității la antimicrobiene sunt cei mai importanți factori ce determină alegerea terapiei antimicrobiene. Recoltarea produselor biologice infectate trebuie făcută, de câte ori este posibil, înainte de sau concomitent cu instituirea antibioterapiei, pentru a reduce riscul de obținere a unor rezultate fals-negative.

Optimizarea prescrierii antibioticelor. Prescrierea antibioticelor ar trebui făcută conform celor mai recente ghiduri terapeutice, cu urmărirea prescrierii celei mai scurte cure eficiente, în doză adecvată și pe calea de administrare corespunzătoare. Decizia de a prescrie un antibiotic trebuie să țină cont de riscurile asociate cu rezistența microbiană atât pentru pacient, cât și pentru populația generală.

Riscul alarmant al creșterii rezistenței la antibiotice și riscul întoarcerii la condițiile din era preantibiotică impun cât mai rapid desfășurarea unor acțiuni multisectoriale pentru lupta împotriva acestor infecții.

Prevenirea infecțiilor prin: dezvoltarea unor sisteme de supraveghere în spațiul comunitar, dar mai ales în spitale, unde apariția infecțiilor nosocomiale reprezintă un risc foarte mare pentru creșterea rezistenței la antibiotice; asigurarea unei acoperiri vaccinale corespunzătoare în rândul populației și intensificarea cercetărilor în vederea producerii de noi vaccinuri.

Supravegherea bacteriilor rezistente prin: utilizarea unor metode de laborator standardizate și armonizate la nivel național și internațional; monitorizarea și combaterea răspândirii și apariției de noi rezistențe la antibiotice atât la speciile bacteriene patogene, cât și nepatogene.

Promovarea dezvoltării de noi antibiotice și de noi teste de diagnostic pentru detectarea bacteriilor rezistente.

CAPITOLUL 2.

SISTEMUL DE SUPRAVEGHERE GLOBALĂ A REZISTENȚEI ANTIMICROBIENE ȘI CONSUM: STRATEGII ȘI ARII DE DEZVOLTARE ÎN TERMENI DE SĂNĂTATE PUBLICĂ

Elena RAEVSCHI, dr. hab. șt. med., conf. univ.,
Catedra de medicină socială și management „Nicolae Testemițanu”

Rezistența antimicrobiană este definită de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) ca rezistență la medicamente antimicrobiene pentru agenți infecțioși precum bacteriile, virusurile, fungii și paraziții. Aceasta poate fi dobândită prin utilizarea neadecvată a medicamentelor vizate. Luând în considerare gama largă de agenți infecțioși implicați, fenomenul rezistenței antimicrobiene este determinat de OMS ca o provocare globală substanțială în termeni de sănătate publică. În 2015, OMS a lansat Sistemul de supraveghere globală a rezistenței antimicrobiene și consum GLASS (*Global Antimicrobial resistance and use Surveillance System*) ca răspuns la provocările impuse de rezistența antimicrobiană (RAM) și în vederea fortificării măsurilor de monitorizare și de control.

Morbiditatea și mortalitatea asociată cu RAM este foarte dificil de identificat, iar în multe cazuri nu sunt disponibile estimări fiabile, în special în țările cu venituri medii și reduse.

Pentru lichidarea acestor lacune este necesară încurajarea cercetărilor privind mortalitatea și morbiditatea atribuite RAM, folosind date și metode standardizate.

Eforturile de două decenii ale OMS în managementul prevenției RAM s-au soldat cu lansarea Planului global de acțiuni privind rezistența antimicrobiană (GAP-AMR) aprobat de Adunarea Mondială a Sănătății în mai 2015. În 2019, OMS a declarat rezistența antimicrobiană drept una dintre

primele zece amenințări globale pentru sănătatea publică, asumându-și rolul de lider în coordonarea colaborării la nivel mondial în vederea atenuării impactului RAM și a dezvoltării capacității de control al acesteia, pledând pentru intervenții bazate pe dovezi, alături de stimularea conștientizării și înțelegerii fenomenului vizat.

Rezistența antimicrobiană este un fenomen complex și necesită o abordare intersectorială, în vederea armonizării politicilor și a activităților centrate pe domeniile ce țin de subiectul uman, animal, plante și mediu, și sporirii eficienței identificării factorilor determinanți care limitează apariția fenomenului RAM în diferite ecosisteme. În acest context, în 2018, Organizația pentru Alimentație și Agricultură a Națiunilor Unite (FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*), Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor (OIE - *World Organisation for Animal Health*) și OMS au semnat un memorandum de înțelegere privind RAM pentru a coopera ca „Tripartit” și a aplica abordarea „O singură sănătate” pentru a combate riscurile sănătății în dimensiunea de interconexiune animal-om-ecosistem. În 2021, Tripartitul a organizat Grupul de lideri ai rețelei „O singură sănătate” în care au fost antrenați directorii generali ai organizațiilor participante, Programul ONU pentru Mediu (UNEP), politicieni, societatea civilă și sectorul privat. Acestui grup îi revine un rol de importanță strategică în abordarea globală a RAM.

OMS, împreună cu partenerii, coordonează activitățile globale privind atenuarea impactului RAM asupra sănătății și dezvoltării umane.

Rolul supravegherii în monitorizarea rezistenței antimicrobiene și consum la nivel global

Supravegherea, piatra de temelie în monitorizarea și în evaluarea rezistenței antimicrobiene, este esențială în informarea factorilor responsabili de luarea deciziilor pentru politici și programe de administrare, de managementul fluxului de prevenire și de control al infecțiilor și de intervenții eficiente și, nu în ultimul rând, de asigurarea capacității adecvate a laboratoarelor de diagnosticare. Supravegherea este un instrument indispensabil pentru monitorizarea RAM și CAM, și pentru evaluarea eficienței strategiilor de combatere locală, națională și globală a rezistenței antimicrobiene.

OMS conduce timp de decenii activitățile de supraveghere a RAM pentru a informa la nivel global despre infecțiile rezistente la antibiotice în unele boli specifice. În prezent sunt disponibile date de înaltă calitate despre tuberculoza rezistentă la medicamente din 169 de țări, despre rezistența la medicamente a infecției HIV din 57 de țări, despre lipsa medicamentelor antimalarice în 64 de țări. Populația acestor țări reprezintă cea mai mare parte a populației lumii și, ca rezultat, cea mai mare parte a poverii bolii infecțioase cu impact ridicat. Situația actuală și tendințele de dezvoltare în dinamică a rezistenței la medicamente a bolilor vizate sunt publicate în rapoarte și publicații recenzate.

Rețelele regionale extinse de supraveghere a RAM există de mai bine de 20 de ani. Acestea includ:

- Rețeaua europeană de supraveghere a RAM (EARS-Net: *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*) fondată în 1998 și coordonată de Centrul European de Prevenire și Control al Bolilor (ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control*);
- Sistemul regional de supraveghere a RAM CAESAR (*Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance*) lansat în 2011 pentru țările care nu fac parte din EARS-Net din Regiunea Europeană a OMS pentru Europa, inclusiv Republica Moldova;
- Rețeaua Societății Europene de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase și Institutul Național Olandez pentru Sănătate Publică și Mediu;
- Rețeaua Latino-Americană pentru Supravegherea Rezistenței Antimicrobiene (ReLAVRA), fondată în 1996 de către Biroul Regional al OMS, regiunea Americilor, Organizația Americană a Sănătății (PAHO) și statele membre partenere.

Sistemul de supraveghere globală a rezistenței antimicrobiene și consum GLASS (*Global Antimicrobial resistance and use Surveillance System*) a fost lansat în 2015 la cererea celei de-a 68-a Adunare Mondială a Sănătății cu scopul de a sprijini Planul global de acțiuni privind rezistența antimicrobiană (GAP-AMR), în special al doilea obiectiv al acestuia ce ține de consolidarea cunoștințelor privind fenomenul rezistenței antimicrobiene prin supraveghere și cercetare în vederea asigurării controlului de calitate al RAM.

„Împreună putem schimba situația privind amenințarea globală a rezistenței antimicrobiene. GLASS este pregătit să contribuie la această schimbare crucială la nivel mondial.”

Dr. Hanan Balkhy *Assistant Director-General
for Antimicrobial Resistance, WHO*

Strategiile GLASS

Amenințarea impusă de RAM poate fi controlată numai dacă strategiile și intervențiile la diferite niveluri sunt bazate pe dovezi relevante și valide. Aceasta a determinat OMS de a înființa Sistemul de supraveghere globală a rezistenței antimicrobiene și consum – GLASS pentru a ajuta toate țările să genereze date în vederea informării factorilor de luare a deciziilor și a facilita dialogul de coordonare la nivel global privind intervențiile de combatere a RAM. Scopul GLASS este de a contribui la nivel global la combaterea RAM prin furnizare de date fiabile și în timp util cu privire la amploarea și tendințele RAM, inclusiv consumul antimicrobian (CAM), care este factorul major de dezvoltare a rezistenței antimicrobiene. Obiectivele de dezvoltare durabilă (ODD), elaborate în 2015 de Adunarea Generală a ONU, reprezintă un set din 17 ținte strategice pentru a diminua amenințările la adresa sănătății publice din secolul al XXI-lea. GLASS monitorizează și raportează progresul ODD.



Sursa: ONU Departamentul Afacerilor Economice și Sociale (<https://sdgs.un.org/goals>)

Obiectivul general al GLASS până în anul 2030 este de a aplica standarde armonizate la nivel global pentru a obține și a partaja date privind RAM și CAM prin sistemul de supraveghere globală, în vederea informării adecvate a factorilor de luare a deciziilor la nivel local, regional și global. Statele membre, Supravegherea RAM a OMS și Rețeaua de Centre de Colaborare pentru Evaluarea Calității și alți parteneri internaționali și-au unit eforturile cu OMS pentru a dezvolta și a implementa GLASS.

Ținând cont de natura complexă a RAM, GLASS s-a axat pe încorporarea treptată a elementelor-cheie existente în vederea înțelegerii comprehensive a fenomenului și a determinantilor acestuia. Astfel, GLASS a început cu o metodologie foarte simplă, bazată pe practici clinice de rutină privind identificarea RAM pentru bacteriile relevante clinic, care cauzează infecții comune la oameni. Aceasta a fost urmată de *GLASS-Emerging Antimicrobial Resistance Reporting* (EAR) în vederea colectării datelor noi despre RAM și a evenimentelor conexe pentru a evalua importanța acestora, a facilita schimbul de informații în timp util și a asigura intervenții coordonate sub aspect epidemiologic și microbiologic.

Alt element important, încorporat în GLASS în 2021, a fost monitorizarea utilizării medicamentelor antimicrobiene prin crearea modulului GLASS-CAM. În acest context, OMS a dezvoltat instrumente standardizate pentru monitorizarea CAM la nivel național și de unități primare, asistând monitorizarea și raportarea națională a consumului de medicamente antimicrobiene și asigurând consolidarea cunoștințelor privind utilizarea lor în funcție de paternul epidemiologic, demografic și geografic.

Până la sfârșitul anului 2021, 114 țări, ceea ce constituie 72% din populația lumii, au dat acordul de a contribui la colectarea datelor în cadrul GLASS-RAM și/sau GLASS-CAM. În anul 2022, 124 de țări, teritorii și regiuni s-au înrolat în GLASS.

Natura intersectorială a RAM necesită abordarea tridimensională a sloganului „O singură sănătate” în fiecare intervenție care vizează combaterea RAM, inclusiv supravegherea în complexitatea sa.

„O singură sănătate” este o abordare integrată, unificatoare pentru a echilibra și a optimiza în mod durabil sănătatea oamenilor, animalelor și

a mediului. Aceasta recunoaște paradigma că sănătatea oamenilor, animalelor domestice și sălbatice, plantelor și mediului ambiant (inclusiv a ecosistemelor) sunt strâns legate și interdependente. Abordarea nominalizată necesită mobilizarea mai multor sectoare, discipline și comunități la diferite niveluri ale societății pentru a lucra coerent în vederea promovării bunăstării și abordării amenințărilor pentru sănătate și ecosisteme. Aceasta este determinată și de necesitatea colectivă de apă curată, energie și aer, alimente sigure și hrănitoare, luând măsuri împotriva schimbărilor climatice, contribuind astfel la dezvoltarea durabilă a omenirii. Abordarea „O singură sănătate” este deosebit de importantă pentru a preveni, a prezice, a detecta și a răspunde la provocările globale pentru sănătate, inclusiv combaterea RAM. Recent, modelul tridimensional „O singură sănătate” a fost încorporat în GLASS și implementat în mai multe țări, dovedindu-și valoarea în facilitarea înțelegerii RAM în dimensiunea de interconexiune dintre sectoare.

Cunoașterea distribuției RAM la oameni în interconexiunea sa și a paternului CAM nu este suficientă. În acest context, se impune necesitatea asigurării evaluării impactului RAM asupra sănătății populației pentru a ghida intervențiile eficiente în vederea reducerii RAM și CAM.

Aplicarea metodei GLASS, dezvoltată recent pentru estimarea mortalității atribuibile infecțiilor în sânge rezistente la antimicrobiene, este menită să genereze estimări relevante în vederea măsurării impactului asupra sănătății globale printr-o abordare sistematică și armonizată de toate țările participante.

În scurta perioadă a existenței sale, GLASS a colectat un volum fără precedent de date cu privire la frecvența RAM, ceea ce constituie o contribuție esențială la îmbunătățirea sănătății populației la nivel global. În rapoartele publicate de GLASS în perioada 2016-2022 sunt acumulate date privind RAM de la 10,9 milioane de infecții confirmate bacteriologic din toate regiunile OMS.

Pe lângă multe realizări importante obținute în monitorizarea RAM, mai rămân și multe lacune. Pentru lichidarea acestora este necesar de a îmbunătăți abordările metodologice, tehnologice și de a utiliza datele obți-

nute în urma supravegherii RAM la elaborarea politicilor eficiente de combatere a acestui fenomen. La colectarea datelor, GLASS se confruntă cu provocări semnificative legate de lipsa de reprezentativitate în mediile cu acoperire scăzută de testare privind RAM, în special în țările cu nivel de dezvoltare mediu și jos.

Următoarea etapă de dezvoltare a GLASS va fi prioritizarea eforturilor de abordare a limitărilor sistemului.

Asigurarea calității supravegherii rezistenței antimicrobiene și consum în cadrul GLASS

Supravegherea globală a rezistenței antimicrobiene trebuie să se bazeze pe estimări ale prevalenței RAM, reprezentativă la nivel național, obținute prin metode standardizate pentru a genera date interpretabile și reproductibile. Numai astfel de date vor permite monitorizarea și evaluarea tendințelor globale ale fenomenului vizat pentru a facilita identificarea riscurilor, măsurarea impactului intervențiilor în vederea controlului și evaluării progresului în realizarea obiectivelor globale pentru reducerea RAM, a bolilor asociate și a deceselor atribuibile.

Pentru a face față provocărilor de viitor, GLASS se axează pe îmbunătățirea calității datelor pentru a furniza dovezi valide privind RAM și CAM.

Multiple surse nedocumentate în cadrul supravegherii sistematizate limitează interpretarea fenomenului RAM în complexitatea sa la toate nivelurile. Sursele nedocumentate sunt determinate de calitatea serviciilor de laborator, de diferențele în structura de organizare a unităților medico-sanitare participante la colectarea datelor, de numărul de unități care nu raportează date (subacoperirea supravegherii), de numărul de pacienți eligibili care nu sunt testați (subdiagnosticarea) sau de numărul de pacienți testați pentru care rezultatele nu sunt raportate (subraportarea). Această situație este determinată de accesul la serviciile medicale, inclusiv diagnostic, și impune, în etapa imediat următoare, concentrarea eforturilor GLASS privind consolidarea supravegherii globale în termeni de asigurare a calității

evaluării progresului de realizare a obiectivelor, stabilite pentru reducerea prevalenței RAM. În acest scop, OMS intenționează să instituie o abordare „în două direcții” care implică atât continuarea consolidării colectării de date bazate pe eșantionarea clinică de rutină a pacienților care solicită asistență medicală, cât și aplicarea strategiilor complementare, precum ar fi sondajele naționale de prevalență, pentru a îmbunătăți calitatea, complexitatea și reprezentativitatea datelor.

Sondajele naționale intermitente ale unui eșantion de subgrup populațional relevant pot oferi o măsurare fiabilă a prevalenței RAM. Această abordare poate ajuta și la depășirea deficitului de date interpretabile privind RAM în cazul în care sistemul de sănătate nu are posibilitate să asigure o supraveghere sistematică continuă. Astfel, sondajele periodice au potențialul de a consolida capacitatea națională de asigurare a calității supravegherii RAM și, în cele din urmă, de a consolida supravegherea bazată pe eșantionarea clinică de rutină.

OMS, ca parte a procesului de îmbunătățire a calității supravegherii la toate nivelurile, stabilește criterii pentru identificarea țărilor, teritoriilor și a regiunilor care ar putea beneficia de supravegherea bazată pe sondaje intermitente. OMS mai dezvoltă un cadru și o foaie de parcurs la nivel global pentru a extinde aceste activități în mod sistematic și strategic. În intervalele dintre sondaje, platforma sondajelor realizate poate servi în calitate de bază de date pentru a efectua cercetări și a furniza dovezi noi în vederea completării golurilor în cunoașterea fenomenului RAM.

Abordarea, propusă de sondajele intermitente, se bazează pe experiențele altor programe de prevenire a bolilor care datează din anii 1990 și au fost esențiale pentru estimarea și monitorizarea prevalenței la nivel național și global a rezistenței la medicamente în malarie, în tuberculoză și în HIV.

Următoarea etapă de dezvoltare a calității GLASS va implica formularea unor indicatori cantitativi simpli care pot fi utilizați pentru a măsura acoperirea supravegherii RAM în patru dimensiuni: populație, (2) sistem de sănătate, (3) managementul diagnosticului clinic (4) managementul diagnosticului de laborator. Astfel de indicatori pot fi contributivi în ajustarea

utilizării mai eficiente a datelor la nivelul național și global, și informarea mai calitativă a factorilor de luare a deciziilor în vederea consolidării sistemelor naționale de supraveghere a RAM care și este obiectivul pe termen lung al GLASS.

Pentru asigurarea calității în supravegherea CAM în cadrul GLASS a fost elaborată metodologia care definește toate elementele de date necesare și stabilește standardele, astfel încât datele naționale CAM să fie corect cantificate, validate și ajustate pentru populația vizată, iar rezultatele să fie interpretate în mod adecvat. La transmiterea anuală a datelor către GLASS- CAM, participanții prezintă lista medicamentelor antimicrobiene înregistrate și cantitățile consumate ale acestora, datele, ambalajul pentru fiecare produs, sursele de date utilizate, clasele de substanțe chimice (ATC).

Raportul GLASS, elaborat în colaborare cu statele membre, conține date despre ratele rezistenței antimicrobiene în țările, teritoriile și regiunile înrolate.

În Raportul GLASS 2020, pentru prima dată au fost prezentate date și evaluări analitice despre consumul de antimicrobiene la nivel național pentru țările înrolate în GLASS-CAM.

Supravegherea națională a CAM se bazează pe bazele de date despre medicamentele în circulație, gestionate, de regulă, de (sau în colaborare cu) agențiile naționale de reglementare a medicamentelor. Utilizarea acestor baze de date facilitează procesul de colectare a datelor și contribuie în mod substanțial la calitatea și la acoperirea datelor despre CAM raportate către GLASS-CAM. Flexibilitatea metodologiei GLASS-CAM este limitată în extragerea datelor despre CAM pe nivelurile fluxului de medicamente, fiind determinată de sursele de date disponibile în fiecare țară participantă. Astfel, sursele de date și, în consecință, acoperirea în cadrul CAM variază în funcție de caz.

Pentru a îmbunătăți acoperirea în timp, țările participante trebuie să perceapă rolul tuturor actorilor de-a lungul întregului flux de medicamente

și conform acestuia să ajusteze treptat sursele de date. În mod ideal, dacă sunt utilizate surse de date la *nivelul macro* de calitate (import și producție locală), datele cel mai probabil sunt reprezentative, deoarece acest tip de raportare a datelor către guvern este în mare parte obligatoriu. Dacă piețele paralele (neoficiale) sunt inexistente sau neglijabile, atunci acoperirea populației este apropiată recensământului național al populației.

Acoperirea cu surse de date la *nivelul mediu* (distribuția și vânzările) poate fi mai joasă în comparație cu nivelul macro din cauza pieței fragmentate a medicamentelor și a lipsei de reglementări pentru raportarea obligatorie a cifrei de afaceri cu medicamente de către angroșiști. Pentru a îmbunătăți reprezentativitatea datelor la acest nivel, este esențial să se cartografieze lanțul de aprovizionare cu medicamente și să se asigure că angroșiștii, care acoperă cea mai mare parte a pieței, sunt incluși în sistemul de supraveghere.

Reprezentativitatea datelor este cea mai scăzută pentru sursele de date la *nivel micro* (prescripțiile, eliberarea și înregistrările de asigurări). Aceasta poate fi îmbunătățită prin dezvoltarea sistemelor electronice de colectare și de gestionare a datelor din diferite surse.

CAPITOLUL 3. FENOMENUL REZISTENȚEI LA ANTIMICROBIENE ÎN ȚĂRILE CU VENITURI MICI ȘI MEDII

Alina FERDOHLEB, dr. șt. med., conf. univ.,
Catedra de medicină socială și management „Nicolae Testemițanu”

Utilizarea inadecvată a antibioticelor și strategiile ineficiente de prevenire și control al infecțiilor contribuie la apariția și la diseminarea rezistenței antimicrobiene (RAM). Un rol important în prevenirea apariției și răspândirii RAM joacă toți furnizorii de asistență medicală. Organizarea sistemelor de sănătate, disponibilitatea testelor de diagnosticare și a antibioticelor adecvate, practicile de prevenire și de control al infecțiilor, împreună cu practicile de prescriere (cum ar fi disponibilitatea fără prescripție medicală a antibioticelor) diferă semnificativ între țările cu venituri mari și țările cu venituri mici și medii (LMIC).

Conform Băncii Mondiale (<https://www.worldbank.org>), țări cu venituri mici (ȚVM) sunt cele cu un Produs intern brut (PIB) pe cap de locuitor de 1035 USD și mediu inferior. Țări cu venituri mici și medii (ȚVMM /LMIC) sunt cele cu un PIB pe cap de locuitor între 1 036 și 4045 USD. În prezent, există 29 de ȚVM și 50 de ȚVMM, majoritatea din Africa și din Asia, și doar două în Europa (Republica Moldova și Ucraina). Dintre cele 56 de țări cu venituri medii superioare, 12 sunt europene (Albania, Armenia, Azerbaidjan, Belarus, Bosnia și Herțegovina, Bulgaria, Kazahstan, Kosovo, Muntenegru, Macedonia de Nord, Federația Rusă și Serbia). Așadar, 14 (30%) din cele 46 de țări europene pot fi clasificate drept economii cu venituri destul de mici și mijlocii, cu fonduri limitate cheltuite pentru tratarea deșeurilor și protecția mediului.

Aceste diferențe în posibilitățile financiare pot afecta implementarea practicilor de prescriere a antibioticelor în aceste țări. Strategia de reducere a sarcinii globale a RAM include și o modificare în profunzimea utilizării antibioticelor cu venituri existente și viitoare în practica medicală.

O alianță globală pentru combaterea rezistenței la antimicrobiene pe calea chirurgicală

„O abordare de succes a infecțiilor ar trebui să se concentreze pe colaborarea între diferiți profesioniști din domeniul sănătății pentru a împărtăși cunoștințele și cele mai bune practici”. Alianța Globală pentru Infecții în Chirurgie a instituit un grup de lucru multidisciplinar, format din profesioniști din țări cu venituri diferite, pentru a evalua prescrierea și utilizarea antibioticelor în țările cu venituri mici și medii (LMIC) cu referire specifică la provocările globale actuale ale rezistenței antimicrobiene (RAM) pe calea chirurgicală.

Rezistența la antimicrobiene – o provocare globală

De-a lungul anilor, antibioticele au salvat milioane de vieți, fiind folosite și pentru prevenirea bolilor infecțioase. Acum însă multe antibiotice nu mai sunt eficiente din cauza dezvoltării RAM care este un fenomen natural generat de evoluția microorganismelor. Savanții au reușit să modifice ritmul în care microbiile dezvoltă și răspândesc rezistența la antimicrobiene.

RAM este una dintre preocupările majore de sănătate publică ale acestui secol, amenințând practica medicinei moderne, securitatea alimentară și sănătatea animală. Fenomenul RAM este legat de mai mulți factori, printre care practicile de prescriere și de utilizare abuzivă a antibioticelor, utilizarea abuzivă/excesivă a antibioticelor în sectorul zootehnic și în mediul ambiant, diseminarea microorganismelor rezistente la antibiotice între aceste sectoare pe plan mondial.

În mai 2015, Adunarea Mondială a Sănătății a aprobat un plan global de acțiuni pentru combaterea RAM în care sunt stipulate cinci obiective strategice: (1) consolidarea atât a înțelegerii, cât și a conștientizării RAM; (2) îmbunătățirea cunoștințelor despre RAM prin supraveghere și cerce-

tare; (3) reducerea incidenței infecției; (4) optimizarea utilizării agenților antibiotici; (5) formularea argumentelor economice pentru investiții durabile, luând în considerare nevoile tuturor țărilor și creșterea investițiilor în noi medicamente, vaccinuri, echipamente de diagnostic și alte intervenții.

RAM este o problemă complexă care amenință sănătatea umană și animală, economia globală, securitatea națională și globală. În conformitate cu abordarea „O singură sănătate”, asistența medicală joacă un rol important în prevenirea dezvoltării și răspândirii RAM. Succesul medicinei moderne, inclusiv transplantul de organe, terapia cancerului, managementul prematurității sau creșterea numărului de intervenții chirurgicale majore avansate, nu ar fi fost posibil fără antibiotice eficiente pentru a controla infecțiile bacteriene.

Pacienții se confruntă adesea cu mai mulți factori de risc care îi expun la RAM. Persoanele vulnerabile sunt extrem de susceptibile, reprezentând un mediu favorabil atât pentru apariția, cât și pentru transmiterea organismelor rezistente, în special în unitățile de terapie intensivă care gestionează cazurile chirurgicale. Infecțiile plăgii chirurgicale (IPCh) rămân o complicație postoperatorie comună la nivel mondial, în ciuda utilizării antibioticelor profilactice și a altor măsuri preventive, constituind o povară importantă, în principal din cauza creșterii RAM.

Fenomenul RAM este o provocare specială pentru țările cu LMIC, caracterizate prin deficitul de date biologice și epidemiologice, un nivel mai scăzut de conștientizare a fenomenului de RAM și absența ghidurilor dezvoltate la nivel local în majoritatea site-urilor, iar puținele date existente sunt alarmante. Într-un studiu transversal descriptiv (în una din LMIC) efectuat pe 83 de pacienți postoperatori cu IPCh, a fost raportată o rată foarte mare de RAM a bacteriilor izolate. 86,0% dintre bacteriile aerobe izolate au fost rezistente la mai multe medicamente (MDR); 65,6% din izolatele gram-pozitive și 96,7% dintre izolatele gram-negative au fost MDR. Patogenii gram-negativi au arătat rezistență ridicată la ceftriaxonă, sulfametoxazol/trimetoprim și gentamicină. Cu excepția *Enterococci spp.*, toate bacteriile izolate au fost rezistente la ampicilină. Izolatele de *Klebsiella spp.* s-au dovedit a fi MDR. Toate izolatele de *Staphylococcus*

aureus au fost rezistente la oxacilină. Rata de izolare a microorganismelor MDR a fost mai mare în cazurile de urgență, la bărbați și în răni murdare, în raport cu tipul de intervenție chirurgicală, genul și, respectiv, clasa plăgii chirurgicale. Un alt studiu, efectuat la spitalul universitar dintr-o țară cu venituri medii și mici, a arătat că 41,2% dintre germeii microbieni izolați în secțiile chirurgicale din infecțiile plăgilor chirurgicale au fost MDR.

Utilizarea adecvată a antibioticelor joacă un rol esențial în optimizarea practicii clinice. Deși antibioticele pot salva vieți, adesea sunt utilizate în mod necorespunzător, mai ales atunci când sunt inutile sau când sunt administrate fără a ține cont de principiile farmacocinetice sau când sunt administrate pe o durată prea mare de timp. Administrarea greșită și abuzivă de antibiotice este recunoscută pe scară largă ca un factor major al selecției de microorganisme rezistente la pacienți și al dezvoltării și diseminării continue a RAM la nivel global.

RAM nu cunoaște hotare, nici gen și nici rasă și are o externalitate negativă bine-cunoscută, cu perspective de viitor înspăimântătoare. Nu este doar o problemă de boală infecțioasă, ci și o problemă chirurgicală care amenință să submineze toate progresele în domeniu.

Infecțiile necesită nu numai un diagnostic prompt și un control imediat al sursei, ci și o terapie antibiotică adecvată. Prescrierea inadecvată a antibioticelor în chirurgie este raportată pe scară largă, pacienții fiind expuși riscului de a primi antibiotice pe durate prelungite cu scop profilactic și terapeutic. Respectarea practicilor de prescriere a antibioticelor este importantă pentru medicii din întreaga lume, mai ales pentru cei din LMIC, unde factorii preexistenți fac respectarea practicilor de prescripție și mai dificilă.

Rezistența la antimicrobiene în LMIC

Intervențiile de limitare a RAM în unitățile de asistență medicală au fost implementate, în mare parte, în țările cu venituri mari. Există o nevoie persistentă de a interveni în țările LMIC, ca urmare a faptului că este dificil de a cuantifica povara RAM în aceste țări, deoarece activitățile de supraveghere pentru a conduce intervenției necesită nu numai timp, ci și resurse financiare. Mai mult de atât, sunt necesare și cunoștințe de bază în

epidemiologie, microbiologie și boli transmisibile, pe lângă expertiză în gestionarea și analiza datelor. În aceste țări, în special în spitalele rurale și unitățile de sănătate, culturile microbiologice de rutină și testele de sensibilitate deseori nu sunt efectuate din lipsa de muncitori, de echipamente și de resurse financiare. Ca rezultat, terapia cu antibiotice este empirică, iar puținele antibiotice disponibile pot fi suprautilizate și abuzate. Această abordare pare a fi relativ ieftină, dar poate spori incidența și răspândirea RAM, generând rezultate clinice suboptimale.

Încă din 2005, cercetătorii au remarcat o creștere rapidă a prezenței tulpinilor de patogeni rezistenți la antibiotice la toate nivelurile de îngrijire a pacienților, cu o rată mai mare în rândul pacienților din instituțiile terțiare. Publicațiile recente din clinicile țărilor LMIC au arătat rezultate îngrijorătoare: tulpini rezistente sunt răspândite într-un spital universitar, afectând, în special, pacienții chirurgicali și de vârste înaintate.

Accesul și utilizarea antibioticelor în diferite țări LMIC variază în limite mari. O analiză a site-ului pilot din India și din țările din Africa demonstrează că unitățile din sectorul public au folosit agenți mai vechi de antibiotice, iar cele din sectorul privat au accesat mai des agenți mai noi, utilizarea antibioticelor fiind calculată pe cap de locuitor.

Datele unui alt studiu au evidențiat o rată mai mare de utilizare a antibioticelor la femei, în orașele mari și în grupele de vârstă economic active (18-45 ani). Peste 80% din antibioticele folosite au fost peniciline cu spectru larg, cefalosporine și macrolide, ceea ce poate contribui substanțial la creșterea numărului de tulpini microbiene rezistente la aceste antibiotice. Acordarea serviciilor chirurgicale în multe din LMIC, în principal în orașele mari, explică răspândirea RAM în populația chirurgicală.

O revizuire a stării actuale a RAM în LMIC, în legătură cu cauzele comune ale infecțiilor și antibioticele recomandate în ghidurile de tratament, a fost publicată în 2017, folosind o abordare axată pe sănătatea publică. Analiza conține trei constatări importante:

(1) pentru mai mult de 40% dintre țări, datele recente privind RAM nu sunt disponibile;

(2) nivelul RAM la antibioticele prescrise în mod obișnuit este semnificativ;

(3) calitatea datelor microbiologice este un motiv de îngrijorare serioasă.

Conform experților, este obligatoriu să se abordeze lacunele în standardizarea și raportarea diagnosticului de RAM și să se utilizeze informațiile disponibile pentru a îmbunătăți și optimiza liniile directe de tratament.

Provocările fenomenului RAM în LMIC sunt multifactoriale din cauza absenței unui sistem național de supraveghere adecvat, a lipsei de reglementări care să controleze industria agricolă, a nivelului scăzut de conștientizare a publicului cu privire la antibiotice și a gestionării proaste a salubrității și a deșeurilor. Conceptul de „oameni, animale și mediu sănătos” nu face parte din niciun plan național și nici nu este o prioritate pe agenda mai multor guverne din LMIC, iar conceptul „O singură sănătate” este inexistent, cu excepția unor eforturi din partea organizațiilor neguvernamentale.

În multe LMIC, antibioticele sunt disponibile fără prescripție medicală, iar automedicația este o practică comună. Populația joacă un rol important în utilizarea abuzivă sau irațională a antibioticelor, precum și în răspândirea percepțiilor asupra rezistenței bacteriene. Constatările arată un anumit grad de superficialitate în cunoștințele referitoare la antibiotice. Studiul realizat în România (*Voidăzan S., Moldovan G., Voidăzan L., Zazgyva A., Moldovan H., 2019*) a arătat, că 22,89% dintre respondenți au considerat că tratamentul cu antibiotice este eficient în cazul infecțiilor virale, iar 14,46% au considerat eficient terapia cu antibiotice pentru orice tip de infecție cu excepția celor de etiologie virală și bacteriană; 29,72% au declarat că nu consultă un medic înainte de a lua antibiotice, în timp ce 25,57% dintre români iau de obicei antibiotice fără prescripție medicală. Studiile publicate (2017-2022) arată că automedicația cu antibiotice într-un interval stabilit (cele 12 luni anterioare, ultimele 6 luni) a fost mai mare în Grecia (45%), România (44%) și Croația (32%) comparativ cu țările din Europa de Vest.

Până în prezent nici un studiu nu a evaluat impactul antibioticelor disponibile asupra RAM. Alți factori responsabili de dezvoltarea RAM sunt legați de durata inadecvată a terapiei, de indicația inadecvată de utilizare a

antibioticelor, de neaderarea la regimurile de antibiotice și lipsa de conștiințizare a utilizării lor.

În sectorul spitalicesc, pe lângă factorii prescriptori enumerați mai sus, RAM poate fi favorizată de aplicabilitatea slabă a programelor de administrare a antibioticelor, de practicile ineficiente de control și de prevenire a infecțiilor și de presiunea de selecție a microbilor rezistenți la antibiotice din cauza utilizării greșite și abuzive a dezinfectanților.

Provocări semnificative pentru dezvoltarea RAM în LMIC sunt disponibilitatea antibioticelor fără prescripție medicală, răspândirea medicamentelor contrafăcute, utilizarea antibioticelor în sănătatea animală și în sectorul agricol în absența reglementărilor din partea factorilor de decizie din domeniul sănătății. Într-o eră a resurselor limitate, țările cu venituri medii și mici se confruntă cu obstacole majore care îndepărtează atenția de la RAM care se extinde în tăcere și capătă amploare, ajungând nu numai la individ, ci și la societate, la națiune și la întregul ecosistem global.

Provocările care trebuie depășite în confruntarea cu RAM în țările cu venituri mici și medii

Abordarea RAM în țările cu venituri mici și medii necesită nu doar voință politică, dar și resurse umane, infrastructurale și operaționale continue pentru a recunoaște pe scară largă natura și amploarea RAM și, în consecință, pentru a implementa și actualiza planurile de acțiune regionale și naționale pentru prevenirea și limitarea RAM în cadrul sistemelor naționale de sănătate. Planurile de acțiune necesită un parteneriat multidisciplinar între sectoarele privat și public, societatea civilă și organizații nonprofit, pacienți, profesioniști din domeniul sănătății, precum și industria farmaceutică multinațională și guverne, susținute de cadre clare de politică internațională, națională și regională care suspendă interesele private pentru binele public.

Pentru a păstra externalitatea pozitivă a antibioticelor, care este beneficiul acestor medicamente pentru generațiile viitoare, atenuarea RAM ar trebui să înceapă prin promovarea utilizării corecte a antibioticelor în cadrul abordării „O singură sănătate” prin restricționarea accesului la antibi-

otice și eliberarea lor numai pe bază de rețetă pentru utilizare în sănătatea umană.

Provocări care trebuie depășite în confruntarea cu rezistența la antimicrobiene în țările cu venituri mici și medii:

1. Nivel scăzut de conștientizare a consecințelor automedicației și eliberarea preparatelor antimicrobiene fără prescripție medicală.
2. Practici ineficiente de control și de prevenire a infecțiilor intraspitalicești.
3. Aplicabilitatea redusă a programelor de administrare a RAM.
4. Absența sistemelor naționale adecvate de supraveghere a RAM.
5. Lipsa datelor recente privind rezistența antimicrobiană.
6. Absența limitelor legale cu privire la utilizarea preparatelor antimicrobiene.
7. Managementul defectuos al salubrității și al deșeurilor.
8. Lipsa de personal medical, de echipamente de diagnostic și de resurse financiare.
9. Eficiența joasă a implementării, în viața de zi cu zi, a legislației în sănătate publică.
10. Lipsa reglementărilor în utilizarea antimicrobienuelor în sănătatea animală și în agricultură.

În sectoarele de sănătate, pentru atenuarea RAM se aplică controlul și prevenirea infecțiilor bazate pe dovezi și se implementează programe de administrare a antibioticelor adaptate resurselor limitate și capcanelor de expertiză. În acest cadru complex, medicii se confruntă cu provocări majore legate de rezultate inadecvate în microbiologie, practici discutabile de control al infecțiilor, resurse umane limitate, lipsa de conștientizare a publicului și de cunoștințe despre RAM.

Pe de altă parte, în LMIC s-au înregistrat progrese substanțiale în combaterea RAM odată cu implementarea programelor de supraveghere a RAM și de administrare a antibioticelor într-un șir de spitale private și publice, și cu modificarea practicilor de prescriere a antibioticelor, inclusiv de către chirurghi. Programele de reducere a RAM conduse de farmaciștii

din spitale au jucat un rol esențial în îmbunătățirea bunelor practici de igienă și în reducerea sepsisului prin campanii de spălare a mâinilor, în pofida numeroaselor provocări comune în țările cu venituri medii și mici (lipsuri de personal, probleme de conexiune la internet, fluctuație de personal etc.), și implementarea măsurilor de prevenire a infecțiilor în rândul pacienților în stare critică. Acest lucru a dus și la reducerea infecțiilor plăgii chirurgicale (IPCh).

Practici de prescriere a antibioticelor pe parcursul căii chirurgicale în țările cu venituri medii și mici

O mare parte din antibioticele prescrise în spitale sunt pentru pacienții operați. Conform datelor unui studiu transversal mondial recent, majoritatea chirurgilor intervievați sunt conștienți de problema RAM, dar o subestimează în propriul spital. Practica a demonstrat că atât măsurile slabe, cât și inadecvate de control și de prevenire a infecției, precum și utilizarea necorespunzătoare a antibioticelor, contribuie la dezvoltarea RAM.

Utilizarea adecvată a antibioticelor este o parte importantă a oricărui program de administrare antimicrobiană care urmărește reducerea dezvoltării și diseminării RAM, garantând astfel o bună practică clinică și standarde optime de îngrijire. Cu toate acestea, practicile de prescriere a antibioticelor în rândul chirurgilor sunt adesea inadecvate, de aceea pe parcursul căii chirurgicale există un decalaj evident între cele mai bune dovezi și practica clinică.

Profilaxia chirurgicală cu antibiotice (PChA) joacă un rol esențial în prevenirea infecțiilor perioperatorii. Utilizarea PChA contribuie în mod remarcabil la creșterea cantității totale de antibiotice utilizate în spitale și în unitățile de asistență medicală și poate fi corelată cu creșterea RAM și a costurilor de asistență medicală. PChA este unul dintre cei mai importanți factori în reducerea ratei infecțiilor plăgii chirurgicale (IPCh), dar și luarea în considerare a strategiilor de bază de control al infecțiilor poate avea un efect profund asupra ratelor IPCh. Raportul OMS privind povara infecțiilor asociate asistenței medicale ilustrează faptul că rata de incidență a IPCh în LMIC variază de la 1,2 până la 23,6%. Unele studii indică inadecvat

PChA ca o importanță pentru IPCh, în timp ce altele indică faptul că PChA nu este realizat corespunzător în LMIC.

Programele de îmbunătățire a conformității cu protocoalele de profilaxie cu antibiotice au arătat rezultate bune atunci când au fost ghidate și monitorizate de farmaciștii din spital și susținute de chirurghi. Această situație este agravată de absența datelor privind biologia IPCh care să inspire linii directoare și protocoale adaptate în mod specific acestor instituții.

Terapia cu antibiotice are un rol important în managementul infecțiilor chirurgicale, în special la pacienții în stare critică care au nevoie de terapie imediată cu antibiotice empirice. Atât acoperirea slabă cu antibiotice, cât și regimurile inadecvate de administrare reprezintă factorii cel mai puternic asociați cu rezultate nefavorabile. Doza, regimul, momentul, calea de administrare și durata terapiei cu antibiotice trebuie întotdeauna optimizate. La majoritatea pacienților cu infecții chirurgicale, după un control adecvat al sursei, scopul terapiei cu antibiotice este tratarea oricărei infecții reziduale. La acești pacienți, prelungirea tratamentului cu antibiotice peste durata sugerată de ghidurile stabilite nu numai că poate duce la RAM, dar nici nu previne persistența sau reapariția infecției. Odată ce este realizat un control adecvat al sursei, durata terapiei cu antibiotice trebuie scurtată cât mai mult posibil, cu excepția cazului în care apar condiții clinice specifice care necesită prelungirea terapiei cu antibiotice (cum ar fi semnele unei infecții în curs).

Chirurgii joacă un rol esențial în prevenirea și în tratamentul infecțiilor, iar practicile lor trebuie să se bazeze pe dovezi. În majoritatea LMIC există un raport strâns pacient-medic, din care cauză chirurgii nu au timp pentru a se informa cu privire la liniile directoare de gestionare a infecțiilor chirurgicale, ceea ce duce la nerespectarea lor. Infecțiile chirurgicale sunt tratate adesea cu antibiotice cu spectru larg fără a ține cont de diagnosticul microbiologic definitiv și de indicația tratamentului cu antibiotice.

Prevenția și tratamentul infecțiilor plăgilor chirurgicale pot fi îmbunătățite prin:

1. Aplicarea de strategii de prevenire și de control al infecțiilor.
2. Evaluarea preoperatorie a factorilor de risc ai pacientului.
3. Optimizarea preoperatorie a parametrilor clinici ai pacientului.
4. Utilizarea celor mai bune tehnici chirurgicale.
5. Condiții optime pentru actul medical și sterilizarea instrumentelor.
6. Profilaxia antimicrobiană perioperatorie adecvată.
7. Terapie antimicrobiană adecvată pentru infecțiile chirurgicale.
8. Identificarea și gestionarea promptă a infecțiilor locului chirurgical.

Din lipsa unor sisteme fiabile și eficiente de supraveghere a RAM, medicii, inclusiv chirurgii din LMIC nu au acces la informații actualizate cu privire la RAM în populația de care au grijă. Situația este mai acută în mediile rurale, unde apar dificultăți în selectarea antibioticului corect în absența unui test de sensibilitate la antibiotice. Ca urmare, din ce în ce mai multe antibiotice cu spectru larg sunt folosite pentru a trata infecțiile. Această practică contribuie la dezvoltarea RAM. Unele dintre profilurile de rezistență la antibiotice devin netratabile cu arsenalul actual de antibiotice, care limitează foarte mult opțiunile chirurgului sau internistului care tratează acești pacienți nefericiți.

În timp ce Organizația Mondială a Sănătății a revizuit lista de antimicrobiene disponibile, etichetându-le pe unele ca „antimicrobiene de importanță critică”, evaluarea acestora este foarte variabilă în LMIC, unde sunt mai disponibile clasele mai vechi de antimicrobiene. Ca atare, în timp ce o serie de studii recente din LMIC dezvăluie o extindere a RAM, rezistența la carbapenem este mai mică în LMIC, deși este o provocare din ce în ce mai mare la nivel global.

Profilaxia chirurgicală cu antibiotice (PChA) a fost implementată pentru a optimiza utilizarea antibioticelor, pentru a reduce dezvoltarea și răspândirea RAM, și pentru a îmbunătăți rezultatele pacienților. Cu toate acestea, cele mai bune strategii pentru PChA nu sunt stabilite în mod absolut și variază în funcție de practica clinică de rutină, de cultura și de politica

locală și, probabil, de resursele limitate ale LMIC. În țările cu venituri mari, de PChA este responsabil un comitet multidisciplinar care se ocupă, pe de o parte, cu monitorizarea continuă a utilizării antibioticelor, a modelelor de rezistență ale acestora și cu evaluarea rezultatelor intervenției, iar pe de altă parte, cu elaborarea de ghiduri locale de tratament bazate pe dovezi. În LMIC aceste componente fie nu sunt prezente, fie există la un nivel minim din lipsa resurselor umane și organizaționale, infrastructurii și finanțării.

Evaluarea eficacității IPCh în spitalele din LMIC a arătat că majoritatea studiilor luate în considerare au descris un efect pozitiv al intervențiilor de administrare antimicrobiană pentru pacienții spitalizați. Întrucât aceste studii au fost efectuate în centre de îngrijire terțiară din zonele urbane din țările cu venituri medii, rezultatele nu pot fi generalizate. Diferențe mari în ceea ce privește resursele, organizarea, practicile de prescriere și procesele de finanțare au fost observate între țări și între unitățile de asistență medicală din țări. Luând în considerare dovezile disponibile, autorii au concluzionat că nu pot fi stabilite recomandări generale cu privire la eficacitatea intervențiilor de administrare a antimicrobiene în LMIC.

Programele de îmbunătățire a practicilor de prescriere a antibioticelor în rândul pacienților chirurgicali în LMIC s-au arătat promițătoare. Atât în sectorul privat, cât și în cel public, instituirea diferitor programe au îmbunătățit practicile lor de prescriere a antibioticelor și au asigurat conformitatea cu protocoalele de antibiotice bazate pe supravegherea RAM și pe administrarea antibioticelor. Aplicarea acestor programe au permis reducerea consumului inutil de antibiotice și a duratei prelungite de tratament inutil.

În cadrul spitalelor publice din LMIC, chiar și cu antibiotice empirice, tratamentul complicațiilor postoperatorii se îmbunătățește dacă se asigură o bună supraveghere a RAM, ceea ce duce la o selecție corectă a antibioticului în peste 93% din cazuri. Pentru ca acest concept să funcționeze sunt necesari chirurghi entuziaști, specialiști în boli infecțioase, microbiologi și farmaciști. Recent au fost recomandați doi indicatori de calitate pentru implementare: adaptarea antibioterapiei empirice în conformitate cu ghidurile naționale de antibiotice și evaluarea antibioticelor prescrise în raport cu ghidurile naționale de antibiotice recomandate.

Infecțiile plăgii chirurgicale (IPCh) sunt cel mai frecvent eveniment

advers la pacienții operați. Prevenirea optimă a IPCh necesită integrarea unei varietăți de măsuri înainte, în timpul și după intervenția chirurgicală. Profilaxia chirurgicală cu antibiotice (PChA) este o măsură eficientă pentru prevenirea IPCh, care urmărește să contracareze colonizarea cu bacterii a pielii sau a mucoasei în locul plăgii chirurgicale în timpul intervenției. Ghidarea medicilor clinicieni în administrarea adecvată a PchA se bazează pe șase întrebări-cheie:

- Care pacienți trebuie să beneficieze de profilaxia chirurgicală cu antibiotice?
- Ce antibiotice ar trebui alese pentru profilaxia chirurgicală cu antibiotice?
- Când ar trebui administrată profilaxia chirurgicală cu antibiotice?
- De ce trebuie să se țină cont la alegerea dozei pentru profilaxia chirurgicală cu antibiotice?
- Când ar trebui predozată intraoperator profilaxia chirurgicală cu antibiotice?
- După intervenția chirurgicală trebuie prelungită profilaxia chirurgicală cu antibiotice?

Strategii pentru practici prudente de prescriere a antibioticelor în LMIC

Infecțiile chirurgicale contribuie în mare măsură la creșterea incidenței bolilor infecțioase la nivel mondial. O revizuire recentă a tratamentului acestui tip de infecții a arătat că prescrierea prudentă a antibioticelor asigură evitarea suprasolicitării, utilizării greșite și consumului irațional de antibiotice în LMIC. Autorii unui studiu au recomandat ca LMIC să-și dezvolte propriile strategii de administrare a antimicrobienulelor, în funcție de cultura locală și de problemele de asistență medicală, pentru a promova practicile de prescriere adecvată a microbienulelor.

Punctele strategice ar putea fi abordate progresiv în LMIC, cum ar fi: (1) facilitățile de diagnosticare adecvate; (2) intervenția educațională pentru cadrele medicale și pentru oamenii de rând; (3) agențiile naționale de reglementare a medicamentelor trebuie susținute de agenții cu renume precum „Food and Drug Administration” (FDA), o agenție federală din SUA, pentru a audita industria farmaceutică și strategia lor de marketing,

practica de prescriere, farmaciile, pentru a controla la ghișeu eliberarea antibioticelor; (4) îmbunătățirea calității serviciilor de sănătate din unitățile de sănătate; (5) cooperarea inter- și intradepartamentală dintre toate structurile sistemului de sănătate; (6) optimizarea administrării antimicrobiene, atât serviciilor spitalicești, cât și la nivel comunitar.

Într-un alt studiu recent se menționează că dificultățile în tratamentul infecțiilor chirurgicale în LMIC țin de lipsa profesioniștilor din domeniul sănătății și de constrângerile legate de infecții. Pentru soluționarea problemei, autorii studiului recomandă dezvoltarea programelor de supraveghere a sensibilității la antibiotice, planificarea și promovarea unei politici adecvate de prevenire a infecțiilor. O atenție deosebită trebuie acordată educației medicale continue (EMC) pe toată durata vieții profesionale. În acest scop ar trebui aplicate metode active de învățare ca parte a unei competențe profesionale pentru a-și menține înregistrarea medicală sau licențele de prescripție.

Controlul RAM nu poate fi responsabilitatea exclusivă a profesioniștilor din domeniul sănătății. Educația continuă este esențială pentru a permite medicilor să învețe noi practici raționale de prescriere a antibioticelor bazate pe dovezi. Abuzul și utilizarea excesivă a antibioticelor este o problemă nu numai în țările cu venituri mari, ci și în LMIC. Nevoia de a formula, de a comunica și de a adopta politici riguroase pentru utilizarea adecvată a antibioticelor este mai stringentă în LMIC, unde se întâlnesc cele mai mari abuzuri. Acest lucru nu este dificil, dar necesită o schimbare de mentalitate și lucru în echipă, chiar și în medii rurale sau cu resurse reduse.

Rolul chirurgului este primordial în prevenirea și gestionarea infecțiilor care necesită adesea un control prompt al sursei de infecție și o terapie antibiotică adecvată. De aceea, chirurgii trebuie să îmbunătățească calitatea îngrijirilor chirurgicale și să evite prescrierea inadecvată a antibioticelor în chirurgie cu scop profilactic și terapeutic.

Un succes rezonabil în reducerea prescrierii inadecvate a antibioticelor se poate obține atunci când chirurgii care prescriu antibiotice au cunoștințe relevante adecvate atât despre proprietățile acestor preparate, cât și despre agenții patogeni susceptibili de a dezvolta rezistență la antibioticele disponibile.

CAPITOLUL 4.

CONSIDERAȚII PRIVIND MANAGEMENTUL ȘI UTILIZAREA PREPARATELOR ANTIMICROBIENE DE CĂTRE LUCRĂTORII MEDICALI

Elena CIOBANU, dr. șt. med., conf. univ.,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă

Cătălina CROITORU, dr. șt. med., conf. univ.,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă

Alina FERDOHLEB, dr. șt. med., conf. univ.,
Catedra de medicină socială și management „Nicolae Testemițanu”

Conștientizarea și înțelegerea rezistenței la antimicrobiene (RAM) în rândul lucrătorilor din domeniul sănătății este un aspect important în abordarea provocării globale a acestui fenomen. Lucrătorii din domeniul sănătății, inclusiv medicii, asistentele, farmaciștii și alți profesioniști în medicină, joacă un rol esențial în prescrierea, în eliberarea și în administrarea antibioticelor. Cunoștințele lor despre rezistența la antibiotice influențează practicile lor clinice și eforturile de educare a pacienților privind prevenirea dezvoltării rezistenței la antimicrobiene.

Numeroase studii, folosind sondaje sau chestionare, au evaluat înțelegerea de către lucrătorii din domeniul sănătății a conceptelor-cheie legate de utilizarea antibioticelor, mecanismele de dezvoltare a rezistenței la antibiotice și practicile prudente de prescriere a acestora. În urma acestor studii au fost evidențiate atât tendințe pozitive, cât și domenii mai puțin studiate referitor la RAM.

În 2018, la nivelul Uniunii Europene/Spațiului Economic European (UE/SEE) a fost realizat un sondaj pentru evaluarea cunoștințelor lucrătorilor din domeniul sănătății despre antibiotice, despre utilizarea lor și dezvoltarea de către microorganisme a rezistenței la antibioticele disponibile, precum și aderarea lor la comportamentele recomandate legate de antibiotice. Rezultatele sondajului au relevat variații în răspunsurile lucrătorilor

din domeniul sănătății din țările UE/SEE, subliniind necesitatea de a spori gradul de conștientizare a utilizării responsabile a antibioticelor și prevenirea rezistenței la antibiotice în rândul lucrătorilor din domeniul sănătății.

Sondajul atrage atenția și la importanța intervențiilor axate pe educație, pe resurse și pe linii directe care promovează prescrierea, eliberarea și administrarea prudentă a antibioticelor. Majoritatea (80%) respondenților au răspuns corect la întrebările despre utilizarea antibioticelor, nu și la întrebările legate de rezistența la antibiotice. Dacă datorită eficacității campaniilor anterioare eficiența limitată a antibioticelor împotriva virușilor a fost conștientizată, riscurile de infecție rezistentă la antibiotice după tratamentul cu antibiotice a virozelor, potențialul de răspândire bacteriană între indivizi și transportul bacteriilor rezistente la antibiotice de către indivizi sănătoși rămân neînțelese.

Un studiu realizat în Regatul Unit al Marii Britanii și al Irlandei de Nord (2019) a evidențiat lacune în cunoașterea de către lucrătorii din domeniul sănătății a fenomenului de rezistență la antimicrobiene. Majoritatea sunt familiarizați cu riscul de reacții adverse la antibiotice, dar o proporție mai mică este la curent că utilizarea neadecvată a antibioticelor crește riscul de dezvoltare a rezistenței agenților infecțioși la acțiunea acestora. Mai mult decât atât, în timp ce peste 90% dintre lucrătorii medicali au conștientizat că indivizii sănătoși ar putea fi purtători de bacterii rezistente la antibiotice, unul din cinci nu cunoștea că bacteriile rezistente la antimicrobiene se pot transmite între indivizi.

Rezultatele pozitive ale acestui studiu se aliniază cu cele obținute de către Hamilton et al. (2020) în Statele Unite care a constatat că 97% dintre asistentele medicale cunosc impactul antibioticelor și legătura dintre utilizarea lor necorespunzătoare și dezvoltarea rezistenței antimicrobiene.

În general, personalul medical din UE/SEE a dat dovadă de o cunoaștere mai bună, în comparație cu omologii lor din Marea Britanie, a transmiterii infecției bacteriene de la pacient la pacient, nu și a riscului crescut de dezvoltare de către microorganisme a rezistenței la antibiotice.

Analiza amplă a înțelegerii de către clinicieni a fenomenului de rezistență la antibiotice, realizată de A.R. McCullough (2015), a relevat faptul

că mulți clinicieni consideră acest fenomen drept o problemă gravă a medicinei moderne, iar utilizarea excesivă a antibioticelor – ca factor principal care contribuie la dezvoltarea acestui fenomen. Însă responsabilitatea pentru dezvoltarea rezistenței la antibiotice clinicienii au atribuit-o altor instituții medicale, medicilor de alte specialități și chiar pacienților. Ei au asociat rezistența la antibiotice cu factori precum durata scurtă de acțiune a antibioticelor, dozele mici și aderența slabă a pacientului, sugerând o viziune cu mai multe fațete asupra cauzelor fenomenului de rezistență antimicrobiană. Respondenții au trecut cu vederea strategiile concentrate pe rolul pacienților în abordarea problemei rezistenței antimicrobiene.

Studiul a scos în evidență unele lacune potențiale în interpretarea fenomenului de rezistență la antimicrobiene. Astfel, clinicienii au demonstrat incertitudine cu privire la durata rezistenței la antibiotice. În realitate, aceasta poate fi reversibilă după încetarea utilizării antibioticelor, deoarece, datorită capacităților compensatorii ale organismelor, rezistența scade la niveluri minime într-un interval de 12 luni. Cu părere de rău, un număr semnificativ de clinicieni nu erau familiarizați cu prevalența rezistenței la antibiotice.

Majoritatea respondenților au conștientizat faptul că rezistența la antibiotice este rezultatul utilizării excesive a antibioticelor, în special a celor cu un spectru larg de acțiune, și al controlului inadecvat al infecțiilor. Un număr substanțial de respondenți au susținut că rezistența este declanșată de utilizarea „nepotrivită” a antibioticelor, de curele prelungite de antibiotice și de autoadministrarea de antibiotice. Acest punct de vedere este justificat, având în vedere că orice utilizare a antibioticelor are potențialul de a stimula rezistența.

Mulți clinicieni intervievați considerau că rezistența la antimicrobiene se dezvoltă ca urmare a unor așa modalități de utilizare inadecvată a antibioticelor precum administrarea de doze prea mici, prescrierea de cure de tratament cu antibiotice prea scurte, nerespectarea de către pacienți a regimului de administrare prescris.

Deficiențele în cunoașterea rezistenței la antibiotice de către lucrătorii din domeniul sănătății pot fi atribuite diversilor factori. În primul rând,

complexitatea fenomenului de rezistență la antibiotice ca și concept științific poate prezenta provocări pentru înțelegere, în special pentru persoanele fără cunoștințe în microbiologie sau în biologia moleculară. În al doilea rând, posibil că programele de instruire și de formare în domeniul sănătății nu reflectă în volum deplin toate aspectele rezistenței la antibiotice, ceea ce duce la lacune în cunoștințele acumulate de practicieni.

În al treilea rând, știința medicală nu stă pe loc, iar lucrătorii din domeniul sănătății nu întotdeauna au acces la cele mai recente informații sau oportunități de formare. Acest lucru poate duce la înțelegeri depășite sau incomplete ale rezistenței la antibiotice.

Lipsa de timp din cauza programului de muncă încărcat de asemenea ar putea limita oportunitățile lucrătorilor din domeniul sănătății de a se angaja în studierea mai aprofundată a rezistenței la antibiotice, de a fi la curent cu cele mai recente viziuni referitor la acest fenomen.

Prioritizarea cunoștințelor privind rezistența la antibiotice poate fi influențată și de factorii culturali, precum și de percepțiile din cadrul instituțiilor medicale. Dacă lucrătorii din domeniul sănătății se concentrează pe îngrijirea pacienților, pentru abordarea fenomenului de rezistență la antibiotice nu le mai rămâne timp și forțe.

Eforturile de îmbunătățire a cunoștințelor lucrătorilor din domeniul sănătății despre rezistența la antibiotice implică adesea intervenții educaționale, promovarea programelor corecte de administrare a antibioticelor și încurajarea colaborării interdisciplinare pentru a aborda comprehensiv fenomenul rezistenței la antibiotice.

Aceste provocări necesită o abordare multilaterală care să includă îmbunătățirea curriculumului educațional, surse de informare accesibile și actualizate, integrarea oportunităților de învățare continuă în procesul de muncă în domeniul sănătății și creșterea gradului de conștientizare a importanței cunoștințelor privind rezistența la antibiotice în asigurarea îngrijirii eficiente a pacientului.

Deși nu există o statistică globală unică a nivelului cunoașterii de către lucrătorii din domeniul sănătății a fenomenului de rezistența la antibiotice,

concluziile din diferite studii subliniază importanța îmbunătăți înțelegerii acestei probleme critice de sănătate publică prin educație continuă și campanii de conștientizare a acestei probleme.

Într-un studiu efectuat în Marea Britanie (2020), 63% din asistentele medicale au afirmat că la administrarea preparatelor antimicrobiene se bazează pe antibiogramă, în timp ce 56% au indicat că încep tratamentul cu un antibiotic cu spectru larg și apoi adaptează alegerea după rezultatele însămânțărilor. Majoritatea asistentelor medicale implicate în studiu au menționat că utilizarea inadecvată a preparatelor antimicrobiene cauzează rezistență, care dăunează pacientului (97%), optimizarea administrării antimicrobienele fiind calea de prevenire a acestui fenomen (94%). 94% de respondenți au fost de părere că antimicrobienele sunt suprautilizate la nivel național, iar 62% au susținut că de aceste preparate se face abuz în instituția unde activează.

Studiile din SUA (2018) arată că 72% dintre respondenți au fost de acord că protocoalele de administrare a antimicrobienele sunt necesare în instituțiile medicale pentru a preveni dezvoltarea rezistenței microbiene la acestea. Pentru astfel de protocoale s-au pronunțat, în special, medicii pediatri (77%), mai reticenți fiind medicii interniști (68%; $p=0,024$). Iar, 91% din respondenți au indicat că protocoalele de administrare a antibioticelor sunt adecvate pentru practicile medicale (87-95%; $p<0,001$).

În studiul cu implicarea lucrătorilor din domeniul sănătății din 30 de țări ale UE (2021), circa 30% din respondenți ar fi preferat să nu prescrie un antibiotic cel puțin o dată pe săptămână, dar oricum au făcut-o. Cel mai frecvent motiv de a nu prescrie antibiotic a fost teama de dezvoltare a complicațiilor. Medicii au raportat că această teamă le-a afectat decizia de a prescrie cel puțin o dată pe săptămână (43%) sau cel puțin o dată pe zi (11%) un antibiotic. Acest rezultat a variat de la o țară la alta.

Alte motive pentru a nu prescrie antibiotice au fost frica de stabilire a unui diagnostic incert (26%), timpul limitat pentru a explica de ce antibioticele nu sunt indicate (10%) și menținerea relației cu pacientul (9%).

Studiul a arătat că medicii din comunitate prescriu de două ori mai multe antibiotice decât cei din spital din cauza constrângerilor de timp

(27,7% vs 18,2%; $p < 0,0001$) sau a necesității de a menține relația cu pacientul (22% vs 12,6%; $p < 0,0001$).

Mai mult de o treime dintre medici (2,085/6,517) nu s-au decis să prescrie antibiotice inutile. Aceste proporții au variat substanțial în funcție de țară și de lucrătorul medical.

Majoritatea (81%) dintre respondenții care au prescris preparate antimicrobiene cunoșteau că bacteriile pot dezvolta rezistență la aceste preparate și că bacteriile rezistente la antibiotice se pot răspândi de la om la om, în timp ce 64% considerau că au un rol-cheie în controlul rezistenței la antibiotice. În rândul personalului administrativ, procentul participanților la sondaj care sunt de acord cu declarațiile de motivare a variat de la 79% în Țara Galilor și până la 88% în Irlanda de Nord.

Studiile științifice arată că dintre respondenții, care au prescris, administrat sau eliberat preparate antimicrobiene, 55% au oferit pacienților sfaturi privind utilizarea prudentă a acestor preparate sau gestionarea infecțiilor și doar 17% au oferit pliante sau broșuri. Cele mai frecvente motive pe care respondenții ($n=1671$) le-au invocat pentru a nu oferi informații sau sfaturi atât de des pe cât au prescris, administrat sau eliberat preparate antimicrobiene au fost lipsa de resurse informaționale (19%) și de timp (11%), indiferența pacientului față de informații (7%). Doar 8% din respondenți au declarat că au oferit sfaturi sau resurse informaționale în volum necesar.

Pentru a sprijini cele mai bune practici în depășirea RAM este important ca lucrătorii medicali să ia în considerare toate barierele asociate cu prescrierea prudentă a preparatelor antimicrobiene și să le analizeze. Printre factorii ce trebuie luați în considerare, pe lângă teama de dezvoltare a complicațiilor, sunt constrângerile de timp la consultarea pacientului, relațiile dintre medic-pacient, conștientizarea așteptărilor pacientului cu privire la prescripția preparatelor antimicrobiene.

Majoritatea medicilor consideră următorii factori drept cauze foarte importante în dezvoltarea RAM: suprasolicitarea preparatelor antimicrobiene în populație (69,81%; $n=111/159$), suprautilizarea preparatelor antimicrobiene în spitale (67,52%; $n=106/157$), automedicația (55,19%, $n=85/154$) și antibioterapia nefinalizată (50,31%; $n=80/159$).

Mai puțin de jumătate dintre medici (37,73%; n=60/159) consideră preparatele antimicrobiene de proastă calitate și doza scăzută de preparate antimicrobiene (17,08%; n=27/158) drept cauze foarte importante ale RAM. Utilizarea excesivă a antibioticelor la animale a fost percepută ca fiind cea mai puțin importantă cauză a rezistenței la antibiotice (67,94%; n=106/156). În schimb utilizarea excesivă a preparatelor antimicrobiene în spitale este identificată ca o cauză foarte importantă a rezistenței la preparatele antimicrobiene ($r_{xy} = 0,54$; $p = 0,019$).

Materialele pentru instruire privind RAM ar trebui să abordeze riscul de răspândire a RAM și impactul pe care aceasta îl are asupra persoanelor și publicului. Resursele, inițiativele și campaniile viitoare ar trebui promovate pe o varietate de platforme sociale. Pentru a identifica cea mai eficientă metodă de comunicare cu practicienii care nu folosesc rețelele sociale în mod profesional este necesară o evaluare suplimentară. Este important să se treacă de la creșterea gradului de conștientizare de către lucrătorii din domeniul sănătății a importanței utilizării prudente a preparatelor antimicrobiene și a dezvoltării rezistenței la ele la proiectarea intervențiilor de administrare a antimicrobienelor care vizează schimbarea comportamentelor.

Pentru a înțelege barierele asociate cu prescrierea prudentă a preparatelor antimicrobiene, cu posibilitățile de îmbunătățire a înțelegerii factorilor și pentru a implementa intervenții utile și de succes sunt necesare cercetări calitative suplimentare.

CAPITOLUL 5. CARTOGRAFIEREA UTILIZĂRII ANTIBIOTICELOR ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Doina MACARI, doctorandă,
Catedra de farmacologie și farmacie clinică
Mihail TODIRAȘ, dr. hab. șt. med.,
Cercetător științific principal, Centrul Științific al medicamentului,
Centrul de cercetare în domeniul sănătății și biomedicinii
Corina SCUTARI, dr. șt. med., conf. univ.,
Catedra de farmacologie și farmacie clinică

Consumul de antibiotice reprezintă un aspect crucial al asistenței medicale moderne, cu un impact semnificativ asupra sănătății umane. Abuzul și utilizarea necorespunzătoare a acestor medicamente au generat o problemă globală: rezistența la antibiotice. Acest fenomen pune în pericol eficacitatea tratamentelor antibacteriene și necesită o abordare atentă și responsabilă nu doar din partea profesioniștilor din domeniul sănătății, ci și a populației în general. Consumul responsabil de antibiotice este esențial pentru prevenirea și gestionarea rezistenței bacteriilor la ele.

Consumul de antibiotice la nivel național și internațional

Până în anul 2050, la nivel global, rezistența la antimicrobiene ar putea scădea anual cu 1,1% produsul intern brut (PIB), iar după 2030 deficitul PIB va depăși un trilion de dolari anual. În cazul impactului major al fenomenului de rezistență antimicrobiană, la nivel global se vor pierde anual 3,8% din PIB până în 2050, cu un deficit de 3,4 miliarde de dolari SUA anual până în 2030.

Analiza modelelor de consum de antibiotice în timp și între țări ar putea contribui la elaborarea unor politici de optimizare a prescrierii antibioticelor și de reducere la minimum a rezistenței la antibiotice, cum ar fi stabilirea și aplicarea unor obiective de consum pe cap de locuitor sau sprijinirea investițiilor în alternative la antibiotice.

Între anii 2000 și 2015, consumul de antibiotice, exprimat în doze zilnice definite (DDD), a crescut cu 65% (de la 21,1 la 34,8 miliarde de DDD-uri), iar rata consumului de antibiotice a crescut cu 39% (de la 11,3 la 15,7 DDD-uri la 1000 de locuitori pe zi). Creșterea a avut loc din contul țărilor cu venituri mici și mijlocii, unde creșterea consumului de antibiotice a fost corelată cu creșterea produsului intern brut pe cap de locuitor. În țările cu venituri mari (HICs), deși consumul total de antibiotice a crescut modest, DDD-urile la 1000 de locuitori pe zi au scăzut cu 4% și nu a existat o relație cu produsul intern brut pe cap de locuitor.

Deosebit de îngrijorătoare a fost creșterea rapidă a utilizării antibioticelor de ultima generație atât în țările cu venituri mici și mijlocii, cât și în țările cu venituri mari, cum ar fi glicilciclina, oxazolidinonele, carbapenemele și polimixinele.

Proiecțiile consumului global de antibiotice în 2030, presupunând că nu există schimbări de politică, au fost cu până la 200% mai mari decât cele 42 de miliarde de DDD-uri estimate în 2015.

Reducerea consumului global de antibiotice este crucială pentru a atenua amenințarea rezistenței la antibiotice, însă eforturile de reducere trebuie să echilibreze limitările de acces în LMICs și să țină cont de modelele de rezistență locale și globale.

În pofida măsurilor întreprinse la nivel global, ponderea bolilor transmisibile cauzate de microorganisme multidrogezistente la antimicrobienele de ultimă generație este în creștere. În același timp, ritmul de descoperire (numai 1 din 16 antibiotice în cercetare ajung la aplicare clinică), precum și producerea de antimicrobiene noi a încetinit semnificativ în ultimele decenii.

În Republica Moldova, antibioticele constituie aproximativ 10% din numărul total de medicamente, iar prevalența consumului de antibiotice constituie 42,7%.

Rezultatele naționale înregistrate conform datelor privind profilul de rezistență la antimicrobiene a microorganismelor implicate în infecții sistemice denotă un nivel crescut de rezistență: izolatele de *K.pneumoniae* manifestă o rezistență sporită la cefalosporine, fluorchinolone, și aminoglicozide, pentru *A.baumannii* profilul de rezistență la fluorchinolone reprezintă

100%, la carbanepeme >90%. și la aminoglicozide >95%. Tulpinile de *E.coli* prezintă o rezistență la peniciline, cefalosporine și fluorchinolone.

Astfel, se atestă necesitatea perfecționării sistemului național de supraveghere a rezistenței la antimicrobiene și a consumului de antimicrobiene în baza abordărilor contemporane. Un sistem de supraveghere integrat va oferi o imagine completă a situației rezistenței la antimicrobiene la nivel național și va permite deținerea unei baze de date standardizate pentru elaborarea unor norme în combaterea acestui fenomen.

În prezent, în Republica Moldova sunt înregistrate 505 de medicamente clasificate, conform codului internațional – ATC (clasificarea *Anatomică, Terapeutică Și Chimică*), ca antibacteriene de uz sistemic. Potrivit Agenției Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale (AMDM), pe parcursul ultimilor trei ani se atestă o creștere constantă a numărului de antibiotice utilizate. În 2021, au fost importate peste 70 de milioane de ambalaje, cu 10% mai mult decât în anii precedenți sau cu peste 20 de cutii per capita în decurs de un an, ceea ce reprezintă aproape două cutii per persoană/lună.

Datele de supraveghere privind utilizarea antibioticelor la nivel de țară sunt necesare pentru monitorizarea în timp a tendințelor naționale și globale, compararea utilizării antibioticelor între țări, furnizarea unei linii de bază pentru evaluarea viitoare a eforturilor de reducere a utilizării antibioticelor și analiza epidemiologică a asocierii dintre utilizarea antibioticelor și dezvoltarea în timp a rezistenței la antibiotice și susținerea politicilor care vizează reducerea rezistenței la antibiotice.

Având în vedere urgența amenințării generate de creșterea nivelurilor de rezistență la antibiotice și în lipsa datelor globale de supraveghere a utilizării antibioticelor, finanțate și armonizate public, trebuie să utilizăm surse alternative de date pentru a urmări modelele de consum de antibiotice în diferite țări. O astfel de sursă sunt datele vânzărilor de produse farmaceutice pentru a documenta tendințele globale în consumul de antibiotice.

Metodologia de determinare a consumului de antibiotice

Există mai multe metode de determinare a consumului de antibiotice într-o anumită populație sau într-o regiune. Cel mai des sunt utilizate următoarele metode:

1. Monitorizarea vânzărilor de medicamente. Această metodă presupune colectarea datelor despre cantitățile de antibiotice vândute în farmacii și în unități de furnizare a serviciilor medicale. Aceste date pot fi folosite pentru a evalua tendințele de consum pe termen lung.
2. Date de facturare în sistemul de sănătate. Sistemele de asigurare în sănătate pot furniza date despre antibioticele prescrise și plătite pentru pacienți. Aceste informații oferă o perspectivă asupra utilizării într-un context clinic.
3. Raportările spitalelor și ale clinicilor. Spitalele și clinicile pot prezenta date despre utilizarea antibioticelor, inclusiv tipul, doza și indicația, în conformitate cu protocoalele locale sau naționale.
4. Studii epidemiologice și clinice. Acestea pot implica colectarea de date de la pacienți, inclusiv date despre diagnostic, tratamentul prescris și rezultatele acestuia. Aceste studii asigură o imagine detaliată a modului în care antibioticele sunt utilizate în cazurile individuale.
5. Supravegherea bacteriilor. Urmărirea tulpinilor de bacterii și a rezistenței acestora la antibiotice poate furniza informații utile despre utilizarea antibioticelor într-o regiune.
6. Studii de consum la nivel de gospodărie. În aceste studii se colectează date despre achizițiile de antibiotice la nivel de gospodărie, ceea ce poate oferi o imagine a consumului în familii.
7. Sondaje de opinie și chestionare. În anumite cazuri, se pot utiliza sondaje și chestionare pentru a obține date despre utilizarea antibioticelor din partea populației sau a profesioniștilor din domeniul sănătății.
8. Date electronice de prescripție. Sistemele informatice pot furniza informații detaliate despre antibioticele prescrise într-un anumit context medical.

Metodele enumerate pot fi folosite individual sau combinate pentru a obține o imagine de ansamblu a consumului de antibiotice într-o anumită regiune sau populație. Important este să fie luate în considerare avantajele și limitările fiecărei metode în funcție de obiectivele specifice ale studiului.

Unitățile de măsură utilizate pentru determinarea consumului de preparate antimicrobiene

Doza zilnică definită (DDD)

DDD, doza medie de întreținere presupusă pe zi pentru un medicament utilizat pentru indicația sa principală la adulți, este *o unitate de măsură și nu reflectă neapărat doza zilnică recomandată sau prescrisă*. Dozele terapeutice pentru pacienții individuali și grupurile de pacienți vor fi adesea diferite de DDD, deoarece se vor baza pe caracteristici individuale (vârsta, greutatea, etnia, tipul și severitatea bolii) și pe considerente farmacocinetice.

Datele privind utilizarea medicamentelor prezentate în DDD oferă doar o estimare aproximativă a consumului și nu o utilizare reală. DDD, fiind o unitate de măsură fixă, independentă de preț, de monedă, de mărimea și de concentrația ambalajului, permite cercetătorului să evalueze consumul de medicamente în dinamică și să realizeze comparații între grupuri de populație.

Doza zilnică prescrisă (PDD)

Doza medie prescrisă pe zi conform unui eșantion reprezentativ de rețete dintr-un spital sau secție.

Zile de terapie (DOT)

Numărul de zile în care un pacient primește un agent antimicrobian (indiferent de doză).

Durata terapiei sau perioada de tratament (LOT)

Numărul de zile în care un pacient primește un tratament sistemic cu agenți antimicrobieni, indiferent de numărul medicamentelor.

Grame de antimicrobiene

Grame de antimicrobian pe baza: achizițiilor (cumpărate) distribuite sau administrate pe o perioadă de timp definită. Servește ca etapă integrală în determinarea DDD.

Analiza comparativă a diferitor unități de măsură utilizate în practică pentru determinarea consumului de antibiotice a arătat că DDD este cea mai frecvent utilizată și permite realizarea de analize comparative: transversale (între secții, spitale sau țări) și longitudinale (luni, ani etc.).

Determinarea DDD pentru medicamentele antimicrobiene utilizate în spital reprezintă un pas important în estimarea consumului de antibiotice și, totodată, poate semnala instalarea rezistenței bacteriene la anumite clase de medicamente și poate servi ca instrument eficient de limitare a utilizării abuzive a medicamentelor dintr-o anumită grupă.

Cartografierea consumului de antibiotice

În Republica Moldova, pentru determinarea consumului de antibiotice, s-a utilizat ca unitate de măsură doza zilnică definită (DDD), recomandată de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS) pentru studii de utilizare a medicamentelor.

Cantitatea de antibiotice consumată a fost exprimată în DDD (defined daily dose)/1000 zile de spitalizare, iar pentru fiecare antibiotic a fost folosită valoarea DDD-ului din versiunea 2022 a ATC/DDD (OMS).

Consumul de preparate antibacteriene s-a calculat în funcție de localizarea geografică a instituției medico-sanitare publice (IMSP), după care a fost realizată cartografierea consumului de antibiotice în funcție de zona administrativ-teritorială.

În calitate de instrument de cercetare s-au folosit rapoartele privind executarea contractelor de achiziții publice în perioada anilor 2018-2021, numărul de zile de spitalizare în unitățile spitalicești luate în studiu pe perioada analizată (2018-2021).

Metoda de calcul a consumului de preparate antibacteriene utilizată:

$$\text{DDD}/1000 \text{ de zile pacient (zile de spitalizare)} = [\text{Utilizarea în DDD}]/[\text{Numărul de zile de spitalizare}] * 1000.$$

În urma centralizării datelor, raioanele au fost clasificate în funcție de nivelul de consum de preparate antibacteriene după cum urmează: „foarte mare”, „mare”, „mediu”, „mic”, „foarte mic”.

Repartizarea raioanelor republicii în funcție de consumul de antibiotice pe ani se prezintă în felul:

- a) anul 2018 (Figura 1A):
 - nivel „foarte mare”, consumul de antibiotice 19,7-23,4 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Comrat și Sângerei;

- nivel „mare”, consumul de antibiotice 6-9,7 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Fălești, Criuleni, Glodeni, Drochia, Dondușeni și Anenii Noi;
- nivel „mediu”, consumul de antibiotice 12,2-16 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Ceadâr-Lunga, Ștefan Vodă, Florești, Ialoveni, Leova, Briceni și Municipiul Chișinău;
- nivel „mic”, consumul de antibiotice 8,5-12,2 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Strășeni, Călărași, Nisporeni, Edineț, Rezina, Cimișlia, Cantemir, Soroca, Orhei, Basarabeasca, Taraclia, Ungheni, Vulcănești și Căușeni.
- nivel „foarte mic”, consumul de antibiotice 0-8,5 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Hâncești, Ocnița, Râșcani, Cahul, Șoldănești, Telenești și municipiul Bălți.

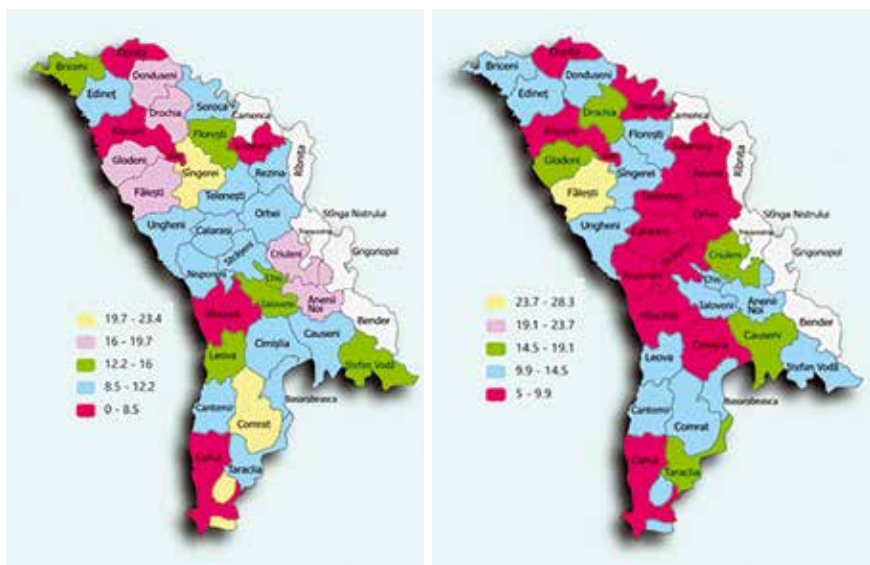


Figura 1. Cartografierea consumului de antibiotice în Republica Moldova în funcție de zona administrativ-teritorială pentru anul 2018-2019 (DDD/1000 zile de spitalizare).

b) anul 2019 (Figura 1B):

- nivel „foarte mare”, consumul de antibiotice 23,7-28,3 DDD/1000 zile de spitalizare, raionul Fălești;
- nivel „mediu”, consumul de antibiotice 14,5-19,1 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Căușeni, Criuleni, Taraclia, Drochia și Glodeni;
- nivel „mic”, consumul de antibiotice 9,9-14,5 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Anenii Noi, Cantemir, Ștefan Vodă, Basarabeasca, Briceni, Ceadâr-Lunga, Edineț, Sângerei, Ungheni, Dondușeni, Comrat, Ialoveni, Leova, Florești și municipiul Chișinău;
- nivel „foarte mic”, consumul de antibiotice 5-9,9 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Hâncești, Râșcani, Strășeni, Soroca, Rezi-na, Cahul, Șoldănești, Ocnîța, Orhei, Călărași, Nisporeni, Telenești, Vulcănești, Cimișlia și municipiul Bălți.

c) anul 2020 (Figura 2A):

- nivelul „foarte mare”, consumul de antibiotice 46,9-56,8 DDD/1000 zile de spitalizare, raionul Fălești;
- nivel „mare”, consumul de antibiotice 37-6,9 DDD/1000 zile de spitalizare, raionul Ialoveni;
- nivel „mediu”, consumul de antibiotice 27,1-37 DDD/1000 zile de spitalizare, raionul Comrat;
- nivelul „mic”, consumul de antibiotice 17,2-27,1 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Edineț, Criuleni, Căușeni, Glodeni, Dondușeni, Cantemir, Taraclia, Drochia, Ceadâr-Lunga, Sângerei;
- nivel „foarte mic”, consumul de antibiotice 5-17,2 DDD/1000 zile de spitalizare, municipiile Chișinău și Bălți, raioanele: Strășeni, Hâncești, Telenești, Orhei, Anenii Noi, Leova, Nisporeni, Râșcani, Cahul, Ocnîța, Cimișlia, Vulcănești, Șoldănești, Briceni, Florești, Călărași, Basarabeasca, Ștefan Vodă, Rezina, Soroca, Ungheni.

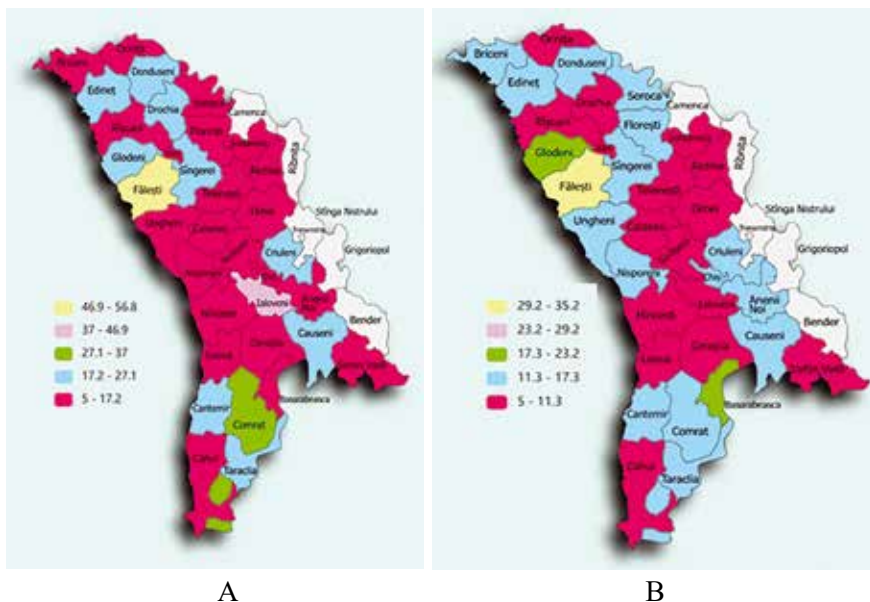


Figura 2. Cartografierea consumului de antibiotice în Republica Moldova în funcție de zona administrativ-teritorială pentru anul 2020-2021 (DDD/1000 zile de spitalizare).

d) anul 2021 (Figura 2B):

- nivel „foarte mare”, consumul de antibiotice 29,2-35,2 DDD/1000 zile de spitalizare, raionul Fălești;
- nivel „mediu”, consumul de antibiotice 17,3-23,2 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Basarabeasca și Glodeni;
- nivel „mic”, consumul de antibiotice 11,3-17,3 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Briceni, Ungheni, Căușeni, Comrat, Nisporeni, Soroca, Criuleni, Anenii Noi, Cantemir, Florești, Edineț, Dondușeni, Sângerei, Ceadâr-Lunga, Taraclia și municipiul Chișinău;
- nivel „foarte mic”, consumul de antibiotice 5-11,3 DDD/1000 zile de spitalizare, raioanele Călărași, Orhei, Strășeni, Șoldănești, Râșcani, Telenești, Cahul, Ocnița, Hâncești, Rezina, Telenești,

Ialoveni, Drochia, Vulcănești, Ștefan Vodă, Cimișlia, Leova și municipiul Bălți.

În urma centralizării datelor pentru anii 2018-2021, un consum sporit s-a înregistrat pentru următoarele grupe de antibiotice: Cefalosporine, Macrolide, Derivați de Imidazol, Tetracicline, Fluorochinolone, Aminoglicozide (Figura 3).

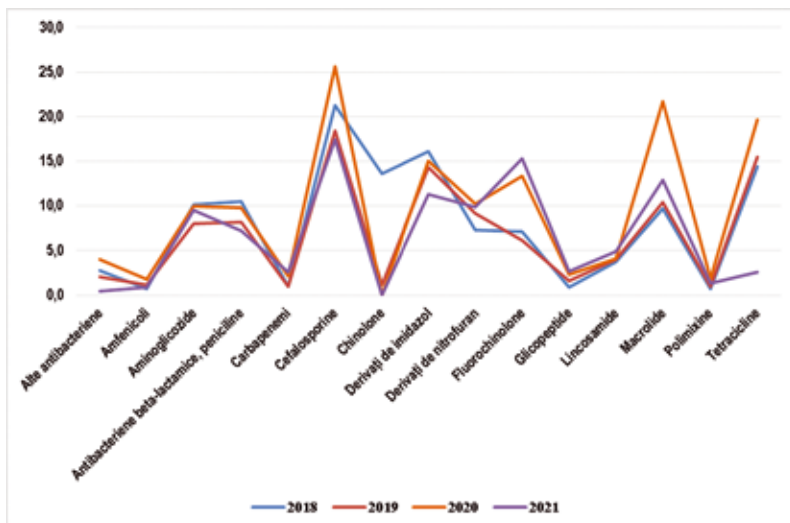


Figura 3. Consumul de antibiotice (DDD/1000 zile de spitalizare) în funcție de grupa farmacoterapeutică pentru anii 2018-2021.

Datele prezentate denotă necesitatea perfecționării sistemului național de supraveghere a rezistenței la antimicrobiene și a consumului de antibiotice în baza abordărilor contemporane. Monitorizarea continuă a tendințelor de prescriere a antibioticelor oferă informații importante autorităților competente pentru implementarea de măsuri care să reducă utilizarea irațională a antibioticelor, scăzând riscul tulpinilor bacteriene rezistente.

CAPITOLUL 6.

AVERTIZARE PENTRU UMANITATE: ANTIBIOREZISTENȚA ȘI SCHIMBĂRILE CLIMATICE

Cătălina CROITORU, dr. șt. med., conf. univ.,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă

Amenințarea dublă – creșterea rezistenței la preparatele antimicrobiene și criza climatică – va avea un impact semnificativ asupra țărilor cu venituri mici și medii, dintre care majoritatea nu au încă planuri de acțiune finanțate privind rezistența la antimicrobiene. Mai mult de atât, țările cu venituri mici și medii au provocări preexistente în ceea ce privește apa, salubritatea și igiena, care sporesc riscul expunerii populației la RAM.

Noutăți privind schimbările climatice

Pe măsură ce criza climatică se agravează, milioane de oameni din întreaga lume se confruntă cu consecințele asupra sănătății ale fenomenelor meteorologice și climatice extreme, cum ar fi secetele, inundațiile și valurile de căldură.

Schimbările climatice reprezintă o schimbare a condițiilor meteorologice medii sau a variației vremii care durează o perioadă extinsă de timp (de la zeci de ani până la milioane de ani).

Vremea este starea atmosferei într-un anumit punct și la un anumit moment sau pentru o perioadă limitată de timp (pentru o zi sau o lună).

În iunie 2023, temperaturile la Roma (Italia) au fost de 42-43°C, în alte orașe ale Italiei precum Florența și Napoli maximele de asemenea au trecut de 40°C. Pe timp de noapte, temperatura cobora până la 20°C, ceea ce făcea ca oamenii să adoarmă cu greu. Autoritățile au emis alerte roșii pentru mai multe regiuni ale țării și au îndemnat oamenii să se hidrateze și să evite expunerea directă la soare.

La începutul lunii iunie 2019, Franța, Spania, Germania, Italia și alte țări europene au fost afectate de cel mai puternic val de caniculă din ultima vreme, când a fost stabilit un nou record al temperaturii medii a aerului în Europa, care a depășit norma cu 2°C.

În Franța, în Gallargues-les-Montueux, la 28 iunie 2019 a fost înregistrat un nou record național al temperaturii aerului de +45,9°C. La alte două stații meteorologice din Franța de asemenea s-au înregistrat valori de peste +45°C, iar în peste 13 stații a fost depășit recordul național precedent de +44,1°C, înregistrat în decursul valului de căldură din august 2003.

În Japonia, cea mai ridicată temperatură a aerului (41,1°C) a fost înregistrată în orașul Kumagaya în 2018.

Interrelația dintre microorganisme, mediul ambiant și schimbările climatice

Alianța oamenilor de știință din lume și mișcarea de avertizare a oamenilor de știință a fost înființată pentru a alerta umanitatea cu privire la impactul activităților umane asupra climei globale și a mediului. În 1992, 1700 de oameni de știință au semnat primul avertisment, atenționând omnia că activitatea umană pune în pericol viitorul lumii vii. În 2017, cu 25 de ani mai târziu, a fost publicat al doilea avertisment semnat de peste 15 000 de savanți. Mișcarea a continuat să ia amploare, următorul avertisment fiind semnat de peste 21 000 de oameni de știință. Avertismentul conține un apel adresat guvernelor și instituțiilor de a schimba politica de la creșterea economică la o economie de conservare care va stopa distrugerea mediului și va permite umanității să-și asigure un viitor durabil.

În cel de-al doilea avertisment accentul se pune pe importanța conservării zonelor umede, pe înlocuirea „afacerilor obișnuite” și pe luarea de măsuri pentru supraviețuirea tuturor speciilor prin evitarea crizei continue a mediului și a schimbărilor climatice.

Obiectivele alianței oamenilor de știință din lume sunt completate cu Obiectivele de dezvoltare durabilă ale Națiunilor Unite care au fost formulate pentru a realiza demnitatea, pacea și prosperitatea pentru oameni și planetă acum și în viitor. Obiectivele reies din nevoile de mediu,

economice și sociale, și abordează durabilitatea prin eliminarea sărăciei, dezvoltarea de orașe sigure și a populațiilor educate, trecerea la surse regenerabile (generarea și consumul de energie) și aplicarea de acțiuni urgente în vederea stopării schimbărilor climatice. Obiectivele recunosc faptul că managementul responsabil al resurselor naturale finite este necesar pentru dezvoltarea unor societăți rezistente și durabile.

Declarația Alianței oamenilor de știință reprezintă un avertisment pentru umanitate din perspectiva microbiologiei. Reieșind din rolul microorganismelor în schimbările climatice și relevanța lor generală pentru societate, cercetarea microbiologică a obiectelor mediului ambiant trebuie să se integreze tot mai mult în abordarea schimbărilor climatice și în realizarea Obiectivelor de dezvoltare durabilă ale Națiunilor Unite.

Schimbările climatice perturbă interacțiunile dintre specii, forțându-le să se adapteze, să migreze și să fie înlocuite cu altele sau să dispară. Astfel, capacitatea coralilor de a se adapta la schimbările climatice este puternic influențată de microorganismele cu care aceștia conviețuiesc. Aceste specii microbiene sunt cruciale pentru sănătatea gazdei prin reciclarea deșeurilor, prin furnizarea de nutrienți și de vitamine esențiale și prin asistarea sistemului imunitar să lupte împotriva agenților patogeni.

Asocierea RAM cu mediul ambiant

Mediul este cheia rezistenței la antibiotice. Microorganismele din sol, din râuri și din apa de mare pot dezvolta rezistență prin contactul cu microorganisme rezistente, preparate antimicrobiene și agenți dezinfectanți eliberați de activitatea umană. Oamenii și animalele pot fi apoi expuse la microorganisme mai rezistente la antibiotice prin alimente, apă și aer. În mediul ambiant, între oameni, animale și mediul ambiant se transmit și se răspândesc microorganisme rezistente la antimicrobiene. Când preparatele antimicrobiene ajung în mediul ambiant, ele pot selecta microorganismele rezistente și/sau pot dezvolta noi rezistențe antimicrobiene.

Prezența și abundența relativă a microorganismelor specifice rezistente și susceptibile la antimicrobiene, în special în apele uzate menajere, pot fi un indicator a ceea ce circulă în societate, inclusiv în instituțiile medi-

co-sanitare. Rezistența la antimicrobiene poate fi rezultatul unei mutații spontane, a unei achiziții și a transmiterii acesteia prin elemente genetice mobile sau prin evenimente de transfer orizontal de gene între microorganismele asociate plantelor, animalelor sau omului și mediului ambiant. Genele de rezistență la preparatele antimicrobiene sunt porțiuni de ADN care codifică rezistența la unul sau la mai multe preparate. Genele sunt fie intrinseci, dezvoltate prin mutații care apar în procesele evolutive, fie pot fi achiziționate de la microorganisme adiacente într-un proces de transfer orizontal de gene (conjugare, transducție sau transformare). Grupul tuturor genelor de rezistență la preparatele antimicrobiene intrinseci și dobândite, transportate colectiv de microorganismele care locuiesc într-o anumită nișă de mediu, este denumit rezistența aceluia mediu.

Locații precum râurile, lacurile, oceanele, care sunt poluate de-a lungul anilor, sunt mai predispușe să adăpostească microorganisme cu gene de rezistență la preparate antimicrobiene și elemente genetice mobile care pot contribui la dezvoltarea RAM, devenind în timp una din sursele de răspândire a RAM în mediu. Microorganismele din acești microbiomi acvatici și sedimente, care pot fi de origine ecologică indigenă, au contribuit la evoluarea RAM de-a lungul anilor, sau pot reprezenta specii invazive de microorganisme rezistente introduse în mediu, cum ar fi fluxurile de deșeuri umane.

Până la 75% dintre preparatele antimicrobiene utilizate în acvacultură pot fi pierdute în mediul înconjurător. Antimicrobienele sunt din ce în ce mai folosite pentru a stimula creșterea animalelor în agricultura intensivă, în special în țările în curs de dezvoltare. 70% dintre preparatele antimicrobiene sunt utilizate la animale. Gunoii de grajd, folosiți ca îngrășământ, contaminează cu preparate antimicrobiene apele de suprafață, apele subterane și rețelele de drenaj.

Microorganismele rezistente la antimicrobiene pot fi prezente în apa brută și în apa de băut tratată. Concentrațiile antimicrobiene din majoritatea efluenților sunt prea scăzute pentru a fi letale pentru bacteriile expuse, dar pot fi suficiente pentru a induce rezistența lor la antimicrobiene.

Deversarea preparatelor antimicrobiene, a dezinfectanților, a metale-

lor grele în mediile naturale are potențialul de a favoriza evoluția microorganismelor rezistente. Acești compuși sunt prezenți în ape și în sol într-o gamă largă de concentrații, în funcție de sursă și de comportament în ceea ce privește rata de degradare și absorbția.

Peste 50% din deșeurile solide municipale ajung în gropile de gunoi deschise. Acestea pot include medicamente neutilizate sau expirate. Până la 80% din preparatele antimicrobiene consumate sunt excretate prin urină și fecale. 30% dintre preparatele antimicrobiene sunt folosite de oameni.

Apele uzate municipale conțin o gamă largă de contaminanți: produse farmaceutice și produse de îngrijire personală din gospodării; deșeuri spitalești cu concentrații mari de antibiotice și de dezinfectanți; compuși din activitatea industrială, inclusiv metale grele. O gamă largă de contaminanți din apele uzate municipale și industriale măresc presiunea asupra bacteriilor pentru a deveni rezistente. Stațiile de epurare a apelor uzate nu pot elimina toate preparatele antimicrobiene și microorganismele rezistente la antimicrobiene. Când tratarea apelor uzate și gestionarea deșeurilor sunt insuficiente, șansele de expunere a microorganismelor rezistente la antibiotice și de răspândire a acestora sunt mari.

În mediul înconjurător, nu toate rețelele și conexiunile de transport a apei răspândesc în mod egal microorganisme rezistente la antibiotice, dar apele uzate sunt considerate un vehicul critic. Sedimentele râurilor din vecinătatea surselor de apă uzată pot crește potențialul de selecție, coselecție și de transfer orizontal de gene rezistente la preparate antimicrobiene. Contactul de lungă durată dintre substanțele chimice și apele uzate ce conțin microorganisme indigene sporesc probabilitatea de selecție și de transmitere a celor rezistente la antibiotice.

Apa stătătoare, în special în timpul inundațiilor, reprezintă calea majoră de transmitere a bacteriilor rezistente la antibiotice în mediu. Persistența și nivelurile ridicate de bacterii producătoare de betalactamaze cu spectru extins (ESBL) în mediul ambiant în timpul sezonului umed și uscat prezintă un risc sporit de creștere a rezistenței la antibioticele beta-lactamice.

Unele unități farmaceutice descarcă cantități foarte mari de antibiotice direct în mediu, ceea ce duce la concentrații ce depășesc nivelurile utilizate

pentru tratarea infecțiilor la oameni. Nivelul ridicat de rezistență la antimicrobiene înregistrat în vecinătatea acestor deversări este o dovadă că selecția microorganismelor rezistente la antibiotice are loc în medii poluate.

În majoritatea efluenților, în apele de suprafață și în sol, concentrațiile preparatelor antimicrobiene ar putea fi de 1000 de ori mai mici decât nivelurile utilizate în clinică sau în efluentul industrial brut.

Expunerea omului la microorganisme rezistente la preparate antimicrobiene poate avea loc în urma consumului de alimente contaminate cu microorganisme rezistente în mediul de producție, cu microbiomii alimentelor de origine animalieră sau în mediile de procesare, sau atunci când consumă apă contaminată cu materii fecale. În medii cu resurse reduse, bacteriile rezistente la mai multe medicamente importante din punct de vedere clinic sunt adesea răspândite în mediu ambiant, crescând probabilitatea transmiterii RAM între oameni și animale.

Preparatele antimicrobiene pot fi absorbite și de plante, de acvaculturi. Fluxurile majore de deșeuri, inclusiv apele uzate, gunoiul de grajd, conțin reziduuri de preparate antimicrobiene și microorganisme rezistente la preparatele antimicrobiene.

RAM și schimbările climatice

O interrelație relativ subraportată între sănătate și schimbările climatice este cea a infecțiilor, în special a infecțiilor rezistente la antibiotice.

Schimbările climatice au devenit realitate, influențând în mod semnificativ sănătatea umană, odată cu creșterea prevalenței agenților patogeni infecțioși și contribuția la rezistența antimicrobiană. Temperaturile ridicate duc la creșterea nivelului mării și a dioxidului de carbon în atmosferă, la schimbarea mediului și a interacțiunilor dintre oameni și alte specii. Aceste modificări au favorizat apariția și reapariția agenților patogeni infecțioși care au dezvoltat deja o rezistență antimicrobiană semnificativă.

Microorganismele susțin existența tuturor formelor superioare de viață. Pentru a înțelege modul în care oamenii și alte forme de viață de pe Pământ pot face față schimbărilor climatice antropice este vital să fie înțelese informațiile despre „majoritatea nevăzută”, adică despre lumea microbilor.

Trebuie studiat nu doar modul în care microorganismele afectează schimbările climatice (inclusiv producția și consumul de gaze cu efect de seră), ci și cum acestea vor fi afectate de schimbările climatice și de alte activități umane. Impactul schimbărilor climatice va depinde în mare măsură de răspunsurile microorganismelor la aceste schimbări, care sunt esențiale.

Schimbările climatice pot duce la ineficiența medicamentelor concepute de a distruge microorganismele patogene.

Provocările RAM nu pot fi înțelese sau abordate separat de una din cele mai importante crize planetare – schimbările climatice. Criza climatică are numeroase efecte asupra ecosistemelor, sănătății umane, animale și a producției alimentare, și care afectează și RAM. Pe măsură ce RAM și schimbările climatice capătă amploare, impacturile asupra vieții, sănătății, economiilor, mijloacelor de trai, sistemelor de sănătate sunt de așteptat să fie semnificative și devastatoare, în special pentru țările cu venituri mici și medii și în curs de dezvoltare. Temperaturile din ce în ce mai ridicate sunt de fapt strâns legate de RAM, deoarece sunt asociate cu rate înalte de creștere a microorganismelor rezistente la antimicrobiene și transferul orizontal de gene rezistente la antimicrobiene. Criza climatică contribuie de asemenea la apariția și la răspândirea RAM în mediul ambiant ca urmare a perturbării continue a mediului din cauza modelelor meteorologice extreme.

Există dovezi semnificative că maladiile bacteriene sunt asociate cu creșterea temperaturii. Un studiu internațional care a cuprins 22 de orașe a constatat că distanța față de ecuator și factorii socio-economici au fost asociați cu riscul de bacteriemie gram-negativă. Mai puține infecții cu *Acinetobacter spp.* sensibile la antibiotice apar în lunile de iarnă. Umiditatea, precipitațiile lunare și temperatura au fost corelate cu ratele de infecții cu microorganisme gram-negative ale fluxului sangvin la pacienții spitalizați.

Criza climatică agravează rezistența antimicrobiană în mai multe moduri. Cercetările au arătat că temperaturile ridicate cresc atât rata de creștere a bacteriilor rezistente la antimicrobiene, cât și rata de răspândire a genelor de rezistență la antibiotice între microorganisme. Inundațiile severe ca

urmare a schimbărilor climatice pot duce la condiții de supraaglomerare, de insalubritate și de poluare crescută, despre care se știe că cresc ratele de infecție și de rezistența la antimicrobiene, deoarece deșeurile umane, metalele grele și alți poluanți din apă creează bacteriilor condiții favorabile pentru a dezvolta rezistența la antimicrobiene. Factorii, care provoacă degradarea mediului, agravează și problema rezistenței antimicrobiene.

Frecvența, compoziția și cantitățile de poluanți care conțin agenți biotici și abiotici pot crește din cauza crizei climatice. Temperatura, concentrațiile de oxigen și de dioxid de carbon din mediu pot influența, de asemenea, supraviețuirea și proliferarea bacteriilor, precum și rata la care acestea dobândesc rezistență la antibiotice.

Creșterea frecvenței și severității precipitațiilor abundente și a furtunilor poate deteriora infrastructura canalizării apelor uzate, crescând astfel riscurile de inundații, de poluare a apelor, de debordare a apelor uzate și de scurgeri agricole. Răspândirea microbilor rezistenți la antimicrobiene prin căile navigabile, sol, aer și animale sălbatice poate crește răspândirea infecțiilor rezistente la preparatele antimicrobiene și poate transporta microorganismele rezistente între zonele populate de oameni. În Accra, Ghana, se crede că focarele de holeră (rezistentă la mai multe tipuri de antimicrobiene) au fost declanșate de inundații, de o salubritate precară a mediului și de managementul defectuos al apelor uzate.

Planeta se încălzește, ceea ce va agrava și RAM

De la începutul secolului XX, temperatura medie pe Pământ a crescut cu 1°C. Din 18 ani (după anul 2000), nouă au intrat în top 10 cei mai calzi ani din istoria observațiilor meteorologice, iar 2016 a fost cel mai „fierbinte” an. În emisfera nordică a planetei, o perioadă caldă, precum cea din 1983 până în 2018, nu a mai fost înregistrată în ultimii 1400 de ani.

Microorganismele și preparatele antimicrobiene ca motor tăcut al schimbărilor climatice

Efectele preparatelor antimicrobiene asupra biodiversității microbiene se pot manifesta prin implicații asupra ciclurilor biogeochimice, cum ar fi

ciclurile carbonului și metanului în atmosferă, care sunt direct implicate în reglarea climei pământului.

Nivelurile mai ridicate de CO₂ din atmosferă măresc productivitatea primară și, prin urmare, așternutul de frunze și de rădăcini în pădure, ceea ce duce la emisii mai mari de carbon din cauza degradării microbiene. Temperaturile mai ridicate favorizează rate mai mari de descompunere a materiei organice terestre. Efectul temperaturii asupra vitezei de reacție microbială nu este doar unul cinetic, ci rezultă din aportul plantelor care stimulează creșterea microbială. Mai mulți factori de mediu locali (compoziția comunității microbiene, densitatea lemnului mort, disponibilitatea azotului și umiditatea) influențează ratele activității microbiene (de exemplu, colonizarea fungică a lemnului), necesitând predicții ale modelului sistemului Pământului privind pierderile de carbon din sol prin încălzirea climatului pentru controlul proceselor ecosistemice. Disponibilitatea nutrienților plantelor afectează bilanțul net de carbon în păduri, deoarece pădurile sărace în nutrienți eliberează mai mult carbon decât cele bogate în nutrienți. Respirația microbială poate fi mai scăzută în pădurile bogate în nutrienți, deoarece plantele furnizează mai puțin carbon (de exemplu, sub formă de exsudate de rădăcină) microorganismelor din rizosferă.

Plantele eliberează circa 50% din carbonul fixat în sol, disponibil pentru creșterea microbială. Pe lângă faptul că sunt folosite de microorganisme ca sursă de energie, exsudatele pot perturba asocierea mineralo-organică, eliberând compuși organici din minerale, utilizați pentru respirația microbială, crescând astfel eliberarea de carbon. Relevanța acestor interacțiuni plante-minerale ilustrează importanța interacțiunilor biotic-abiotice, pe lângă interacțiunile biotice (microorganisme din plante) atunci când se evaluează influența schimbărilor climatice. Modelele termodinamice, care încorporează interacțiunile microorganismelor și enzimelor secretate cu materia organică și minerală, au fost folosite pentru a prezice feedback-urile carbon-climat din sol ca răspuns la creșterea temperaturii.

CAPITOLUL 7.

REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE ÎN MEDIUL ACVATIC: IMPACTUL ASUPRA APEI POTABILE

Elena CIOBANU, dr. șt. med., conf. univ.,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă
Victoria BOLOGAN, doctorandă,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă
Maria CURTEANU, doctorandă,
Disciplina de igienă, Departamentul Medicină Preventivă

Prevalența globală și diseminarea bacteriilor rezistente la antibiotice reprezintă o provocare urgentă și semnificativă pentru sănătatea publică. Un rezervor proeminent pentru bacterii rezistente la antibiotice și de gene de rezistență la antibiotice sunt ecosistemele acvatice. Apariția lor în aceste medii este exacerbată de afluxul de antibiotice provenite din ape uzate și din scurgerile agricole din cauza utilizării pe scară largă și în cantități mari a antibioticelor.

În mod tradițional, preocupările privind calitatea apei potabile s-au axat, în primul rând, pe prezența agenților patogeni dăunători în sistemele de distribuție a apei. În ultimii ani, o preocupare tot mai mare este identificarea urmelor de antibiotice și a bacteriilor rezistente la antibiotice atât în apa din surse decentralizate, cât și în apa potabilă tratată. Această problemă emergentă are implicații de anvergură pentru publicul larg și pentru industria apei potabile, deoarece ar putea avea un impact substanțial asupra sănătății publice.

Studiul bacteriilor rezistente la antibiotice în sistemele de apă potabilă este concentrat pe bacteriile cultivabile și pe organismele indicator. În consecință, soarta și comportamentul genelor de rezistență la antibiotice în sistemele de apă potabilă nu este cunoscută. Recent, experții au tras un semnal de alarmă, considerând genele de rezistență la antibiotice drept contaminanți emergenți. Înțelegerea dinamicii acestor gene în sistemele de

apă potabilă, în activitățile recreative în apă și în alimentele contaminate este crucială, deoarece se pot transfera între bacterii, ceea ce poate duce la răspândirea rezistenței la antibiotice între diferite specii microbiene. Acest fenomen ar putea reduce și mai mult eficacitatea antibioticelor în tratamentele medicale, făcând infecțiile mai greu de controlat și de tratat.

Colaborarea dintre autoritățile de sănătate publică, agențiile de mediu și comunitatea științifică este esențială în dezvoltarea strategiilor robuste de protejare a rezervelor de apă împotriva rezistenței la antibiotice. Campaniile de conștientizare și de educație publică sunt, de asemenea, esențiale pentru a promova utilizarea responsabilă a antibioticelor și gestionarea mediului, ceea ce ar putea ajuta la reducerea impactului bacteriilor rezistente la antibiotice și a genelor de rezistență la antibiotice asupra ecosistemelor acvatice și, în cele din urmă, asupra sănătății publice.

Apa contaminată cu bacterii rezistente la antibiotice poate fi ca o sursă potențială de infecție pentru oameni și animale. Dacă indivizii vin în contact cu apa care conține agenți patogeni rezistenți la antibiotice, pot dezvolta infecții dificil de tratat cu antibiotice standard, ceea ce duce la îmbolnăviri prelungite și la rate potențiale de mortalitate crescute. Drept urmare, infecțiile rezistente la antibiotice pot fi mai dificil și mai costisitor de tratat. Atunci când antibioticele își pierd eficacitatea împotriva anumitor bacterii, este posibil ca furnizorii de servicii medicale să fie nevoiți să utilizeze antibiotice mai puternice și mai scumpe sau să recurgă la combinații de antibiotice, crescând riscul de efecte adverse.

Sistemele de apă sunt interconectate, iar bacteriile rezistente la antibiotice și genele de rezistență la antibiotice pot călători pe distanțe lungi prin căile navigabile și apele subterane, diseminând rezistenței la antibiotice nu numai la nivel local, ci și regional, și chiar global.

Rezistența la antibiotice în apă poate avea consecințe ecologice, afectând echilibrul comunităților microbiene din ecosistemele acvatice. Aceste dezechilibre pot deregla circuitul natural al nutrienților, favorizând reproducerea în masă a algelor, fenomen cunoscut ca „înflorirea apei”, sau la alte dezechilibre de mediu.

Rezistența la antibiotice este capacitatea naturală sau dobândită a unui microorganism de a rezista efectelor unuia sau mai multor antibiotice.

Când un antibiotic nu mai are efect asupra unei anumite specii bacteriene, specia este desemnată ca **rezistentă la antibioticul dat**.

Genele de rezistență la antibiotice sunt segmente specifice ale ADN-ului bacterian ce le permite să reziste la efectele antibioticelor.

Apariția infecțiilor rezistente la antibiotice este o povară grea pentru sistemele de asistență medicală, ceea ce duce la rate crescute de spitalizare, durate mai lungi de tratament și costuri ridicate de asistență medicală. Eficacitatea redusă a antibioticelor împotriva bacteriilor rezistente înseamnă că anumite infecții pot deveni netratabile, limitând opțiunile de tratament și conducând la rate mai mari de morbiditate și de mortalitate.

Rezistența la antibiotice în apă necesită o abordare multilaterală care implică utilizarea responsabilă a antibioticelor în medicina umană și veterinară, îmbunătățirea tratării apelor uzate pentru a reduce eliberarea de antibiotice și de bacterii rezistente, și o mai bună monitorizare și supraveghere a calității apei pentru a detecta și a răspunde la potențiale focare de infecții rezistente. Autoritățile de sănătate publică, factorii de decizie, profesioniștii din domeniul sănătății și populația, toți joacă un rol esențial în combaterea rezistenței la antibiotice în apă și în protejarea sănătății publice.

Consum uman și veterinar de antibiotice

În ultimele decenii, consumul de antibiotice a crescut semnificativ, pe măsură ce populația umană a crescut și accesul la servicii medicale s-a îmbunătățit, la acest trend contribuind și cererea sporită de proteine animale și intensificarea producției de alimente. Studiile au arătat că în perioada 2000-2015, în 76 de țări, rata generală de consum de antibiotice a crescut cu 39%, în special în țările cu venituri mici și medii, dar care nu a întrecut consumul din țările cu venituri mari. Analiza consumului de antibiotice

în spațiul economic european între 1997 și 2017 a arătat că antibioticele β -lactamice (precum penicilina) au rămas cele mai consumate, iar consumul general de antibiotice nu numai că nu a scăzut, ci a crescut pentru unele grupe de antibiotice.

Studiile indică că pentru conștientizarea și prevenirea rezistenței la antibiotice sunt necesare eforturi suplimentare pentru a reduce consumul excesiv de antibiotice la nivel mondial. Această problemă reprezintă o provocare majoră pentru sănătatea publică și necesită acțiuni urgente pentru a proteja eficacitatea antibioticelor și a preveni răspândirea rezistenței bacteriene.

În prezent, antibioticele sunt utilizate pe scară largă și în zootehnie, la creșterea plantelor și în acvacultură. În acvacultură, antibioticele sunt adăugate direct în apă ca măsură preventivă. Întrucât sistemele de acvacultură sunt bogate în specii de bacterii, transferul orizontal de gene decurge intens, favorizând diseminarea genelor de rezistență la antibiotice și a bacteriilor rezistente la antibiotice în mediul acvatic.

Atât antibioticele, cât și metaboliții lor sunt excretați de oameni și de animale prin urină și fecale, ajungând în sistemele de canalizare fie ca substanțe neschimbate, fie sub formă de conjugări de acid glucuronic și sulfuric. Aceasta contribuie la contaminarea apei cu reziduuri de antibiotice. Prin urmare, este imperativ de a conștientiza și de a utiliza corect antibioticele pentru a diminua rezistența la antibiotice la nivel global. O reducere a consumului de antibiotice ar putea determina scăderea nivelurilor de antibiotice găsite în apele uzate și în apa potabilă.

Este esențial de a lua măsuri colective pentru a gestiona în mod responsabil utilizarea antibioticelor în medicină, în zootehnie și în agricultură, astfel încât să fie protejată eficacitatea acestor medicamente cruciale și să fie prevenită răspândirea rezistenței bacteriene la antibiotice în mediul acvatic. Prin abordări sustenabile și măsuri adecvate de control, va putea fi protejată sănătatea publică și integritatea mediului acvatic.

Instituțiile medico-sanitare și industria farmaceutică

Instituțiile medico-sanitare reprezintă o sursă importantă de bacterii rezistente la antibiotice, iar apele uzate provenite de la aceste unități sunt

evacuate, de obicei, în sistemul de canalizare fără a fi supuse unei pretratări adecvate. Deoarece spitalele utilizează frecvent produse farmaceutice, inclusiv antibiotice, cantitățile de bacterii rezistente la antibiotice și de gene de rezistență la antibiotice din apele uzate ale spitalelor pot prezenta un risc sporit de ecotoxicitate.

Reziduurile de antibiotice din apele uzate provenite din mediul spitalicesc nu sunt suficiente pentru dobândirea rezistenței la antibiotice.

Pentru combaterea rezistenței antimicrobiene este necesar de a preveni răspândirea bacteriilor rezistente la antibiotice aflate deja în circulație și de a preîntâmpina apariția de noi specii rezistente la antibiotice.

În mediul înconjurător există multiple surse pentru apariția de noi gene de rezistență la antibiotice cu capacitate de a se transmite între specii.

Poluarea mediului cu antibiotice nu face decât să favorizeze dezvoltarea rezistenței antimicrobiene.

Chiar dacă stațiile de tratare a apelor uzate pot îndepărta majoritatea bacteriilor rezistente la antibiotice, eliminarea genelor de rezistență la antibiotice este o provocare mare. În efluenții stațiilor de epurare a apelor uzate din spitale au fost detectate niveluri ridicate de gene de rezistență la antibiotice și de elemente genetice mobile asociate cu rezistența la antibiotice. Genele de rezistență la antibiotice detectate în efluenți sunt asociate cu rezistența la antibiotice relevante din punct de vedere clinic, cum ar fi β -lactamele, sulfonamidele, macrolidele și tetraciclilinele.

Un studiu realizat la Universitatea Gothenburg, Suedia, a demonstrat contribuția apelor reziduale la dezvoltarea rezistenței antimicrobiene este cu mult mai mare decât se presupunea. Testarea a sute de probe de apă din diferite medii a arătat că toate speciile rezistente la antibiotice se dezvoltă mai intens în apele reziduale, decât la nivelul microbiomului uman sau animal.

Aceste constatări subliniază importanța monitorizării și gestionării adecvate a apei uzate din spitale pentru a preveni diseminarea rezisten-

ței la antibiotice în mediul acvatic și pentru a minimiza impactul acestora asupra sănătății publice și a ecosistemelor acvatice. Gestionarea corectă a apelor uzate din unitățile medicale și limitarea prezenței antibioticilor și a bacteriilor rezistente la antibiotice în mediul acvatic necesită o abordare integrată.

Formarea de biofilm în sistemele de distribuire a apei potabile

Sistemele de distribuire a apei potabile cuprind o rețea de conducte extinse care furnizează apă potabilă de la stațiile de tratare a apei potabile către consumatori. Rezervoarele de apă, care permit stocarea apei pe termen lung, reprezintă resurse importante de apă potabilă pentru populație. Aceste structuri adăpostesc, de obicei, o zonă mare de biofilm, detașând și eliberând bacterii rezistente la antibiotice și gene de rezistență la antibiotice, contaminând apa potabilă. Prin urmare, dezvoltarea biofilmelor în sistemele de distribuire a apei potabile și tratamentele ineficiente ale apei reprezintă un risc uriaș pentru sănătatea umană. De-a lungul evoluției istorice a omenirii, epidemiile au fost asociate anume cu utilizarea apei potabile contaminate cu bacterii.

Mai multe studii și rapoarte au evidențiat riscul formării de biofilm în sistemele de distribuire a apei potabile. Utilizând tehnici de PCR (Polymerase Chain Reaction) cantitativ de mare randament, în probele de apă prelevate de la două stații de tratare a apei potabile au fost identificate 285 de gene de rezistență la antibiotice și alte elemente genetice mobile.

Tratarea apei cu carbon activ biologic poate duce la creșterea ratei genelor de rezistență la antibiotice, iar clorurarea la etapa finală de tratare a apei sporește relativ abundența acestor gene, detectate în sistemele de distribuire a apei și în apa furnizată la robinet. În apa de la robinet, abundența absolută a acestor gene, în special a celor de rezistență la β -lactamice, a crescut semnificativ (de la 6,4 până la 109,2 ori) în comparație cu apa tratată, sugerând că transportul prin conducte contribuie la diseminarea rezistenței la antibiotice în sistemul de distribuire a apei.

Detectarea prezenței elementelor genetice mobile, cum ar fi transpozazele și genele *intI-1*, sugerează că acestea joacă un rol critic în disemina-

rea rezistenței la antibiotice în apa potabilă. Transpozazele și genele *intI-1* sunt cunoscute pentru capacitatea lor de a transfera și de a insera gene de rezistență la antibiotice în genomul bacteriilor, contribuind astfel la răspândirea lor.

Un studiu realizat de *Chan și colab. (2019)* a arătat că 58% din bacteriile detectate în apa distribuită populației proveneau din biofilmul format în conductele de distribuire a apei. Așadar, biofilmul joacă un rol important în supraviețuirea și în diseminarea bacteriilor rezistente la antibiotice în sistemul de apă potabilă. Într-un alt studiu (2022) s-au identificat 174 de gene de rezistență la antibiotice în probele de sedimente prelevate din zece rezervoare de apă, inclusiv gene cu rezistență multidrog, de exemplu la sulfonamide și vancomicină, și elemente genetice mobile ca principalii factori biotici care contribuie la diseminarea genelor de rezistență în sedimentele analizate.

Formarea de biofilm în sistemele de distribuire a apei potabile agravează diseminarea rezistenței la antibiotice în apa potabilă, afectând calitatea și siguranța acesteia. De aceea este necesar să se dezvolte noi sisteme de remediere a apei pentru a elimina eficient genele de rezistență la antibiotice din stațiile de tratare a apei potabile, pentru a inhiba formarea biofilmului și pentru a elimina genele de rezistență la antibiotice și bacteriile rezistente la antibiotice din conducte și din rezervoarele de apă.

Eliminarea antibioticelor, bacteriilor rezistente la antibiotice și a genelor de rezistență la antibiotice prin procesele de tratare a apei

La nivel mondial, de la începutul secolului XX, în tratarea apei a fost aplicată o combinație de procedee: coagularea, sedimentarea și filtrarea. Stațiile convenționale de tratare a apei folosesc o combinație de unități de coagulare, de floculare, de sedimentare, de filtrare și de dezinfectare pentru a oferi populației apă potabilă curată și sigură. Însă aceste tehnologii prezintă mai multe dezavantaje. Majoritatea proceselor de tratare a apei uzate și a apei potabile necesită utilizarea de substanțe chimice periculoase, ce formează produse secundare, și au și costuri ridicate. Tratamentele convenționale ale apei elimină în mod eficient bacteriile, însă eliminarea genelor

de rezistență la antibiotice prin procese precum coagularea, sedimentarea și limpezirea, filtrarea cu nisip și filtrarea biologică cu cărbune activ nu poate fi realizată.

Unele studii au demonstrat că prin tratamentele convenționale, inclusiv filtrarea cu nisip și clorurarea, se pot obține totuși rezultate bune în îndepărtarea unor gene de rezistență la antibiotice, în special a genelor de rezistență la sulfonamide *sul1*, *sul2* și *sul3*, aminoglicozide ARG *aadA*, *aadB* și *aadE*, β-lactamine ARG *bla OXA-1* și *bla TEM*, macrolide ARG *ereA*, *ermF*, *ermG*, *ermX*, *mefA* și *mphA*, chinolone ARGs *qepA*, *qnrA*, *qnrD* și *qnrS* și tetracicline ARGs *tetA*, *tetC*, *tetG*, *tetO*, *tetQ*, *tetS*, *tetX*.

Eficiența de îndepărtare a altor gene de rezistență la antibiotice, cum ar fi *aphA1*, *strA*, *strB*, *ermB*, *qnrB* și *tetM* a fost mai puțin consistentă, rapoartele arătând atât scăderi, cât și creșteri ale expresiei lor. Tratamentele convenționale cu apă au fost ineficiente și în îndepărtarea genelor de rezistență la pompa de eflux *mexF*, *mexT* și *mexW*, macrolide ARG *ermC* și tetraciclină ARG *tetB*.

În prezent, pe lângă clorurare, ozonare și radiațiile ultraviolete (UV), sunt aplicate alte două tehnologii comune de dezinfecție utilizate la stațiile de tratare a apei uzate și a apei potabile în funcție de doza utilizată și de alți factori fizico-chimici. Prima tehnologie constă în utilizarea radiației ultraviolete la presiune joasă ca tratament bactericid suplimentar pentru a elimina genele de rezistență la antibiotice în procesul de tratare a apei potabile. Cea de-a doua tehnologie, combinarea tratamentului cu radiație ultravioletă cu procesele convenționale folosite în sistemul de tratare a apei, a dus la o reducere considerabilă a bacteriilor rezistente la antibiotice și la inactivarea genelor de rezistență *blaTEM1*, *mphA* și *tetA*, dar a făcut să crească abundența genelor de rezistență *aadA*, *mexF*, *mexT*, *mexW*, *bacA* și *sul1*.

Într-un studiu, radiația ultravioletă cu diode electroluminiscente (LED UV) a eliminat bacteriile rezistente la antibiotice și unele gene de rezistență la antibiotice precum (*tetL*), dar rezistența a reapărut în mod natural după dezinfecție. Așadar, procesul de iradiere cu LED UV pentru îndepărtarea bacteriilor rezistente la antibiotice și a genelor de rezistență la anti-

biotice din apa potabilă este o strategie promițătoare, dar care necesită o optimizare suplimentară. În ultimii ani au apărut diferite tehnologii pentru gestionarea sistemelor de apă potabilă, cum ar fi carbonul activ biologic și tehnologia de filtrare cu membrană.

Mai multe rapoarte și studii au arătat că utilizarea carbonului activ biologic la tratarea apei potabile poate crește abundența genelor de rezistență la antibiotice. Acest fenomen a fost asociat cu aderența bacteriilor la suprafața filtrului și formarea de biofilme, ceea ce facilitează transferul orizontal al genelor de rezistență la antibiotice între bacterii.

Rezultate similare au fost obținute și pentru filtrele granulare cu cărbune activ, unde s-a observat că utilizarea carbonului activ poate contribui la creșterea abundenței genelor de rezistență la antibiotice în apa tratată. Filtrarea prin pulbere de cărbune activat s-a dovedit a fi mai eficientă în îndepărtarea genelor de rezistență la antibiotice. Prin urmare, există diferențe în capacitatea de eliminare a genelor de rezistență între diferite tipuri de filtre și de tehnologii de tratare a apei.

Filtrarea cu membrană este un alt proces avansat de tratare a apei care include ultrafiltrare, nanofiltrare, osmoză inversă și osmoză directă. Membranele acționează ca bariere fizice pentru a limita trecerea agenților patogeni și a altor contaminanți ai apei în timpul tratării acesteia.

Filtrarea prin osmoză inversă reduce abundența absolută a genelor de rezistență la sulfonamide (*sul1* și *sul2*), tetracicline (*tetB*, *tetG* și *tetX*), macrolide (*ermF*) și chinolone (*qnrA*, *qnrB* și *qnrS*).

Liang și colab. (2021) au obținut o reducere de aproximativ 99% a genelor de rezistență la antibioticele totale prin filtrare prin membrană care a inclus o etapă de ultrafiltrare și un proces de osmoză inversă în două etape. În total au fost analizate 16 tipuri de gene de rezistență la antibiotice, inclusiv *tetQ*, *tetM*, *tetW*, *sul1*, *sul2*, *ermF* și *cfrA*. Deși abundența absolută a genelor de rezistență la antibiotice s-a redus semnificativ, acestea au rămas la niveluri detectabile în apa finală, precum și ARNr 16S care au arătat doar o ușoară scădere.

Așadar, tehnologia membranei îmbunătățește îndepărtarea bacteriilor și a unor gene de rezistență la antibiotice, în comparație cu procesele con-

venționale de tratare a apei, dar nu le îndepărtează total din probele de apă, performanța variind în funcție de studii. *Le și colab. (2018)* au arătat că microfiltrarea a eliminat complet bacteriile rezistente la antibiotice și a redus unele gene de rezistență la antibiotice, dar genele *blaKPC*, *blaNDM*, *blaSHV*, *ermB*, *int11*, *sul1* și *tetO* au persistat și după tratament. Într-un alt studiu a fost observată o creștere a numărului de gene de rezistență la sulfonamide (*sul1* și *sul2*) și la tetracicline (*tetA*, *tetB*, *tetM*, *tetO*) și *tetX* după ultrafiltrare.

Tehnologia membranei prezintă și un dezavantaj major: riscul de biofouling. Microorganismele pot adera la suprafața membranelor, formând biofilme, susținând astfel proliferarea bacteriilor rezistente la antibiotice. Diverse specii bacteriene, inclusiv *Klebsiella* sp., *Staphylococcus* sp. și *E. coli*, au fost găsite în biofouling-ul membranelor de filtrare. Numărul genelor de rezistență la antibiotice în procesul de osmoză inversă crește la pretratarea cu clorinare, utilizată pentru a preveni murdărirea membranei. Alte abordări pentru a reduce riscul de murdărire a membranei implică modificarea suprafeței acesteia sau curățarea ei, ceea ce crește costurile asociate.

Un studiu recent a demonstrat că membranele cu un orificiu mai mic de 5000 Da și încărcate pozitiv, spre deosebire de ADN-ul încărcat negativ, îmbunătățesc retenția și adsorbția ADN-ului liber.

În linii generale, tehnologia cu membrane pentru tratarea apei și îndepărtarea genelor de rezistență la antibiotice a prezentat rezultate promițătoare, necesitând unele îmbunătățiri. Genele de rezistență la antibiotice pot fi reținute pe membrane în timpul proceselor de ultrafiltrare, nanofiltrare sau osmoză inversă, dar nu sunt biodegradate. Drept urmare, aceste gene prinse în membrane pot fi eliberate în apă în cazul spargerii sau deteriorării membranelor.

Prin urmare, performanța inefficientă a proceselor convenționale și avansate de tratare a apei justifică necesitatea unor sisteme de remediere mai eficiente și mai accesibile, care să elimine poluanții emergenți, inclusiv antibioticele, bacteriile rezistente la antibiotice și gene de rezistență la antibiotice din mediu și din sursele de apă.

Strategii și soluții promițătoare pentru combaterea rezistenței la antibiotice

Atenuarea răspândirii rezistenței la antibiotice în mediu ar trebui să includă strategii care vizează eliminarea corectă a antibioticelor la stațiile de tratare a apelor uzate și a apei potabile, a bacteriilor rezistente la antibiotice în stațiile de tratare a apelor uzate și a apei potabile, și din biofilmele din sistemele de distribuție a apei potabile, a genelor de rezistență la antibiotice atât în stațiile de tratare a apei potabile, cât și în sistemele de distribuție. În ultimii ani sunt raportate noi strategii pentru remedierea apei, inclusiv adsorbția și degradarea poluanților, bazate pe biomateriale, nanomateriale și microalge.

Anumite specii bacteriene au devenit multidrog rezistente. De exemplu, MRSA (*Staphylococcus aureus* metilino-rezistent), VRSA (*Staphylococcus aureus* rezistent la vacomicină), *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis*. În acest context, sunt necesare noi tipuri de strategii pentru dezvoltarea de tratamente eficiente în combaterea infecțiilor bacteriene.

Ineficiența proceselor convenționale și avansate de tratare la stațiile de tratare a apei cu scopul îndepărtării antibioticelor, bacteriilor rezistente la antibiotice și, în principal, a genelor de rezistență la antibiotice, crește cererea de a dezvolta metode noi sau complementare. În ultimii ani, câteva studii au evidențiat beneficiile aplicării nanotehnologiei și tehnologiilor bazate pe microalge în remedierea apei. Nanomaterialele și microalgele au demonstrat performanțe remarcabile la eliminarea antibioticelor, care este crucială pentru a reduce presiunea selectivă care contribuie în mare măsură la diseminarea bacteriilor rezistente la antibiotice și a genelor de rezistență la antibiotice. Prin urmare, utilizarea complementară a nanotehnologiei și a microalgelor în procesele de tratare a apei, cum ar fi osmoza inversă și directă, promite o îndepărtare eficientă a antibioticelor și a bacteriilor rezistente la antibiotice.

Dezvoltarea de noi procedee pentru eliminarea genelor de rezistență la antibiotice în stațiile de tratare a apei și în sistemul de distribuire a apei rămâne o provocare, în principal pentru că nu există niveluri sigure de gene de rezistență la antibiotice în apă. Astfel, reducerea abundenței totale sau relative a genelor de rezistență la antibiotice nu garantează și calitatea apei de consum. Chiar și la niveluri scăzute, genele de rezistență la antibiotice pot fi propagate printre microorganisme și pot contribui la diseminarea rezistenței la antibiotice.

CAPITOLUL 8.

UTILIZAREA BACTERIOFAGILOR ÎN PRACTICA MEDICALĂ CA O ALTERNATIVĂ LA TERAPIA ANTIMICROBIANĂ

Greta BĂLAN, dr. hab. șt. med., conf. univ.,
Disciplina de microbiologie și imunologie,
Departamentul Medicină Preventivă
Lucia GALBEN, doctorandă,
Disciplina de microbiologie și imunologie,
Departamentul Medicină Preventivă

În biosferă există aproximativ 10^{30-31} de bacteriofagi (fagi), numărul real fiind de 10 ori mai mare decât numărul total de celule bacteriene. Ca parte inerentă a microbiomului uman, fagii sunt bine tolerați atunci când sunt utilizați în terapie, iar ca una dintre cele mai promițătoare alternative la terapia antimicrobiană, se pot utiliza atât în medicină, în agricultură, cât și în alte domenii. Evoluția bacteriilor multirezistente și panrezistente la antibiotice reprezintă o amenințare reală la adresa controlului bolilor infecțioase la nivel global, de aceea sunt necesare noi terapii antimicrobiene eficiente. Una dintre aceste terapii și este utilizarea bacteriofagilor.

Epoca postantibiotică, în care plăgile minore și infecțiile banale pot duce la deces din cauza lipsei de antimicrobiene sau a ineficienței lor, nu mai este o fantezie apocaliptică, ci o adevărată amenințare a secolului al XXI-lea. De exemplu, microorganismele ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter* spp.) sunt extrem de rezistente la mai multe antimicrobiene și reprezintă astăzi o provocare serioasă pentru medicină. Pe de altă parte, din punct de vedere istoric, nu a existat un cadru normativ adecvat pentru noi abordări terapeutice flexibile și durabile, cum ar fi fagii. Pentru fagi, aceasta include supravegherea inițierii și

aprobării studiilor clinice adecvate. Un protocol standard pentru terapia cu fagi la moment nu există.

Biologia bacteriofagilor

Fagii sunt virusurile care afectează bacteriile. Întrucât nu au mecanisme pentru a genera energie și nici ribozomi pentru a produce proteine, fagii sunt paraziți bacterieni obligați care poartă toată informația genetică necesară pentru a-și realiza reproducerea într-o gazdă. Mărimea genomului fagilor variază de la câteva mii de perechi de baze azotate până la 498 de perechi pentru fagul G, care este cel mai mare fag secvențiat până în prezent. Majoritatea fagilor au specificitate înaltă către gazdă (deși unii au o gamă largă), rezistență ridicată în ecosistemele naturale și potențial inerent de a se reproduce rapid într-o gazdă potrivită. Datorită diversității de specii bacteriene, fagii sunt prezenți în majoritatea ecosistemelor naturale.

Fagii pot fi clasificați, în funcție de dimensiunea și de forma lor, în trei grupuri generale: icosaedrici, filamentoși și complecși. Membrii acestor grupuri pot conține acizi nucleici de diferite tipuri, inclusiv ADN monocatenar (ssADN), ADN dublu catenar (dsADN), ARN monocatenar (ssARN) sau ARN dublu catenar (dsARN).

Fagii, în funcție de acțiunile lor asupra celulei bacteriene, se grupează în virulenți și temperați. Bacteriofagii virulenți se reproduc imediat și induc liza celulei pentru a permite eliberarea descendenților, în timp ce fagii temperați își integrează materialul genetic în genomul gazdei, unde se reproduc cu gazda până când nu este declanșată calea litică, ca și la fagii virulenți.

Fagii virulenți cu coadă din ordinul *Caudovirales* sunt cei mai bine descriși pentru aplicațiile terapeutice. În cadrul acestui grup, reprezentanții familiei *Myoviridae* au un cap mare și o coadă contractilă, *Siphoviridae* dispun de o capsidă relativ mică și o coadă lungă, flexibilă, necontractilă, iar la *Podoviridae* capul este mic, iar coada scurtă.

Fagii virulenți cu coadă urmează un ciclu litic care începe cu atașarea specifică a antireceptorilor fagilor la moleculele receptorului de pe suprafața celulei-gazdă. Această interacțiune este adesea în două etape, cu o

fază inițială reversibilă și apoi o fază ireversibilă. Odată legate ireversibil, enzimele degradează peretele celular și materialul genetic este introdus în celula-gazdă cu ajutorul enzimelor procesive ale gazdei. Odată transcris, genomul fagului începe să redirecționeze metabolismul celulei-gazdă, inclusiv replicarea ADN-ului și biosinteza proteinelor, către reproducerea acidului nucleic și a proteinelor virale. Deseori, genomul gazdei este degradat în timpul acestui proces. După asamblarea virionilor începe liza celulelor bacteriene, pentru eliberarea particulelor virale. Liza bacteriană este declanșată târziu de către proteinele fagice, inclusiv holine (pentru a permeabiliza membrana celulară internă) și endolizine (pentru a degrada peptidoglicanul), cu pierderea integrității peretelui celular provocând liza din cauza diferenței osmotice.

Specificitatea

Specificitatea fagilor față de gazdă este variată, unii fagi infectează mai multe specii, iar alții se multiplică doar pe un anumit izolat, fiind totuși mult mai mare decât cea a antimicrobielenor. Receptorii de pe suprafața celulei bacteriene și mecanismele antivirale de apărare (genetice și fizice) sunt principalele proprietăți care determină specificitatea fagilor. Pentru unele specii extrem de conservative, un singur bacteriofag poate omorî majoritatea tulpinilor (de exemplu, fagul P100 infectează >90% din izolate testate de *Listeria monocytogenes*). Fagii care se multiplică pe specii cu o diversitate clonală mare (de exemplu, *Pseudomonas aeruginosa*) omoară, de obicei, doar o mică parte dintre tulpini.

Instituirea colecțiilor de fagi sau antrenarea *in vitro* a fagilor pentru a deveni mai activi și pentru a genera mai puțină rezistență bacteriană, pot fi strategii eficiente în depășirea specificității limitate a gazdei pentru terapia țintită cu fagi. Această strategie funcționează cel mai bine în infecțiile cronice în care bacteria-țintă este bine caracterizată.

Pentru a trata infecțiile acute, sunt propuse cocktailuri de fagi, inclusiv fagi care cuprind întregul spectru de potențiale tulpini implicate în proces. Dezavantajele acestei abordări sunt cercetările și resursele necesare pentru producerea de cocktailuri multicomponente și stabile. O abordare alternati-

vă este utilizarea enzimelor litice fagice (endolizine), care prezintă o specificitate mai largă față de gazde, la nivel de gen și de specie.

Antibioticele omoară, de obicei, un spectru larg de bacterii atât gram-pozitive, cât și gram-negative, inclusiv flora indigenă, și duc la dobândirea rezistenței microorganismelor la ele. Terapia cu fagi face față acestor provocări prin specificitate înaltă și capacitatea de a trata izolate rezistente la antimicrobiene.

Farmacologia bacteriofagilor

Farmacologia fagilor prevede studiul interacțiunilor dintre fagi și bacterii, precum și interacțiunile dintre fagi și țesuturile umane. Terapia de succes și sigură cu bacteriofagi implică controlul eficient al interacțiunilor fag-gază implicând două componente fundamentale: farmacodinamica și farmacocinetica.

Farmacodinamica este studiul efectului preparatelor medicamentoase asupra organismului (studiază locul și mecanismul de acțiune, efectele biologice ale medicamentelor). Impactul medicamentelor asupra organismului poate fi pozitiv, menținând sau restabilind astfel sănătatea, sau negativ, cum ar fi cauzarea de efecte adverse toxice.

Fagii pot fi aplicați prin strategii terapeutice active sau pasive. În tratamentul activ, fagii sunt introduși în concentrații mai mici decât concentrația bacteriilor, iar terapia se bazează pe producerea și pe eliberarea de fagi descendenți pentru a infecta toate bacteriile. Tratamentele active cu fagi sunt considerate a avea caracteristici de dozare automată și că imită mecanismul homeostatic al organismului mai bine decât produsele farmaceutice standard prin omorârea țintită a bacteriilor și producerea de fagi la locul infecției, și nu sistemic. Tratamentul pasiv cu fagi se bazează pe administrarea unică sau multiplă de concentrații suficiente de fagi pentru a infecta toate bacteriile-țintă.

În comparație cu antimicrobienele, este necesar doar un singur fag pentru a omorî o bacterie și astfel sunt necesare mai puține doze de tratament. Fagii, de asemenea, nu disociază de țintele bacteriene odată ce sunt adsorbiți ireversibil, însă pe unele bacterii se pot adsorbi mai mulți

fagi. Din aceste motive, este important să înțelegem conceptul de infectare multiplă, care reprezintă cantitatea de fagi administrați per celulă. Titrul de omorâre, un alt concept care poate fi utilizat pentru a ghida terapia cu fagi, este numărul de particule eliberate de fagi bactericizi (ex. numărul de fagi pe baza formării petelor sterile). Incapacitatea de a cunoaște cerințele specifice ale farmacodinamicii fagilor ar putea duce la scăderea eficacității terapiei cu fagi.

Degradarea fagilor de către anticorpi și alte componente ale sistemului imun nu duc la producerea și la acumularea de produse toxice. Toxicitatea scăzută a fagilor este determinată de compoziția lor, fagii cu coadă fiind alcătuiți doar din proteine și din acid nucleic. Ca rezultat, terapia cu fagi poate fi considerată comparativ benignă din punct de vedere fiziologic, în comparație cu terapia antimicrobiană.

Farmacocinetica studiază soarta medicamentului în organism sau ce face organismul cu medicamentul (absorbția, distribuția, metabolismul și excreția). Absorbția și distribuția medicamentului necesită mișcarea acestuia în întreg organismul, la început în sânge și apoi în țesuturi sau în situații specifice unde medicamentul se poate acumula în diferite concentrații. Farmacocinetica fagilor este, de asemenea, influențată de degradare și de proliferare ca urmare a autoreplicării bacteriofagilor.

Calea de administrare a bacteriofagilor, de asemenea, va influența farmacocinetica in situ. În cazurile clinice, fagii sunt administrați frecvent parenteral, oral, prin aplicare topică și aerosolizare. Datele privind eficacitatea relativă a acestor abordări sunt obținute, în mare parte, din studiile efectuate pe animale. De exemplu, eficacitatea administrării intramusculare, intraperitoneale și subcutanate a unui coctail de fagi a fost comparată la tratarea infecției cu *P. aeruginosa* pe un model de arsuri la șoareci. Administrarea intraperitoneală a fost cea mai eficientă, probabil datorită administrării unui număr mai mare de fagi, mai rapidă și pentru o perioadă mai lungă, comparativ cu celelalte căi de administrare. La administrarea orală a fagilor la șoareci s-a observat că adăugarea de CaCO_3 0,025% protejează eficient fagii de pH-ul acid din stomac și aceștia reușesc să ajungă în tractul gastrointestinal unde au redus numărul de *E. coli* O157:H7. Pe șoareci a

mai fost demonstrată experimental că aerosolizarea fagilor este superioară injectării intraperitoneale în tratamentul infecțiilor cu *Burkholderia*.

Studierea farmacocineticii fagilor *in vitro* folosind modele matematice nu reflectă neapărat cinetica fagilor *in vivo*. De exemplu, fagul T4 nu se reproduce *in vitro* la concentrații de celule-gază sub 10^4 /ml, dar acest lucru este posibil experimental pe șoareci.

Multiple experimente privind utilizarea fagilor în hrana animalelor și a oamenilor au raportat frecvent trecerea unui număr mare de fagi (până la 90% din cei administrați) în fecale. Eșecul multor experimente de terapie cu fagi a fost determinat de înțelegerea greșită a farmacocineticii fagilor, de exemplu, atunci când dozarea se bazează prea mult pe autoreplicarea fagilor.

Enzimele litice ale fagilor (endolizinele) pot fi folosite și în terapie, dar cinetica lor are multe tangențe cu tratamentele obișnuite. De exemplu, Jun și colab. au determinat că o endolizină specifică pentru *Staphylococcus aureus* a avut un timp de înjumătățire între 0,04 și 0,38 ore după administrarea intravenoasă la voluntari sănătoși. Cinetica de dezintegrare a acestei endolizine este probabil explicată prin prezența proteazelor plasmactice. Alte endolizine au demonstrat un timp de înjumătățire mai mare, cum ar fi 11,3 ore pentru CF-301 și 5,2-5,6 ore (pentru 30 și, respectiv, 60 mg/kg) pentru P128.

Eliberarea toxinelor (de exemplu, endotoxine) în urma lizei unui număr mare de celule bacteriene ar putea declanșa un șoc toxic în timpul terapiei cu fagi. Antimicrobienele precum amicacina, cefoxitina și imipenemul induc eliberarea unor cantități mai mari de endotoxină decât colifagii. Cantitatea de endotoxină produsă după 180 de minute de incubare a *E. coli* LM33 cu fagul LM33_P1 a crescut de 3,8 ori, cu amikacină de 5,5 ori, cu cefoxitin de 8,7 ori și cu imipenem de 30 ori. La incubarea tulpinii de *E. coli* 536 cu amikacină, cantitatea de endotoxină a crescut de 19,8 ori, cu fagul 536_P1 de 29,9 ori, cu imipenem de 53,7 ori și cu ceftriaxonă de 125,1 ori.

Necătând că terapie cu fagi reprezintă o problemă mai mică în comparație cu utilizarea antibioticelor, fragmentarea înaltă a peretelui celular tre-

buie redusă la minimum utilizând terapia cu fagi sau cu endolizine fagice, pentru a preveni creșterea citokinelor proinflamatorii. Mai mulți cercetători au propus utilizarea cu acest scop a fagilor obținuți prin inginerie genetică pentru a preveni sau reduce liza celulară, provocând, în același timp, moartea celulelor prin mecanisme precum degradarea genomului bacterian.

Deci, necătând că terapia cu fagi reprezintă o problemă mai mică în comparație cu utilizarea antibioticelor, fragmentarea înaltă a peretelui celular trebuie redusă la minimum utilizând terapia cu fagi sau cu endolizine fagice, pentru a preveni creșterea citokinelor proinflamatorii. Pentru abordarea acestei potențiale probleme, mai mulți cercetători au propus utilizarea fagilor obținuți prin inginerie genetică pentru a preveni sau reduce liza celulară, provocând în același timp moartea celulelor prin mecanisme precum degradarea genomului bacterian.

Rolul răspunsului imun în terapia cu fagi

Fagii pot stimula imunitatea înăscută și dobândită ceea ce ar influența succesul terapiei cu fagi. Pot fi identificate trei domenii majore de interacțiune fag-imunitate. În primul rând, implică recunoașterea imună prin intermediul receptorilor de recunoaștere a paternului (RRP), care presupune recrutarea fagocitelor la locul infecției. Fagii pot media activarea celulelor imune înăscute atunci când RRP recunosc ADN-ul și ARN-ul derivat din fagi. Amploarea activării imune este diferită în funcție de tipul de fag, de doză și de activitatea acidului nucleic *in vivo*.

În al doilea rând, anticorpilor de neutralizare a fagilor pot împiedica succesul terapeutic și acest efect poate crește odată cu administrarea repetată a fagilor. Inducerea anticorpilor împotriva fagilor este considerată a fi foarte variabilă, astfel încât imunogenitatea trebuie luată în considerare în timpul screening-ului fagilor înainte de terapia cu fagi. Există mai multe proteine fagice externe, cum ar fi Hoc, care pot induce un astfel de răspuns imun. Strategiile pentru a evita formarea anticorpilor neutralizanți induși de fagi includ ajustarea dozei, utilizarea schemelor de tratament cu doze mici sau terapie pasivă cu doze mici.

În al treilea rând, este cunoscut efectul inhibitor al imunității umorale dobândite prin producerea de anticorpi antifagi. Întrucât acest efect este dependent de doză, doar dozele mari pentru perioade lungi de timp induc răspunsul specific. În acest context a fost efectuat un studiu pe termen lung de inducere a anticorpilor (IgM, IgG, IgA secretorie) la șoarecii hrăniți pe cale orală cu fagi T4 în doze mari (10^9 unități formatoare de plăci (UFP)/ml apă de băut) în urma căruiua nu s-a observat niciun efect în primele două săptămâni și doar în săptămânile 3-5 s-a înregistrat o creștere a IgG serice din sânge. IgM nu a crescut până când IgG nu a început să crească, în timp ce IgA nu a crescut până în zilele 63-79, dar când a atins maximul, nu a fost găsit nici un fag în fecalele de șoarece. Concentrațiile crescute de IgA au antagonizat tranzitul intestinal al fagilor activi, iar bacteriile rezistente la fagi au dominat flora intestinală până în ziua a 92-a, IgA fiind eliminată rapid după retragerea fagului.

Un studiu similar a pus în evidență răspunsul imun la utilizarea fagilor *Pseudomonas* F8 și T4 într-un experiment pe șoareci modelând sindromul răspunsului inflamator sistemic (SIR). Răspunsul imun primar (IgM) și secundar (IgG) au inhibat fagii, iar concentrația de fagi în splină a scăzut semnificativ.

Pentru a evalua răspunsul imun la fagul ϕ X174e au fost efectuate studii pe oameni (26 de pacienți imunocompromiși). Intravenos s-a administrat o doză de 10^9 UFP/kg greutate corporală și s-a determinat titrul de fagi în sânge. La opt pacienți cu agamaglobulinemie X-linkată nu a fost detectat un răspuns imun umoral timp de 11 zile, iar 18 pacienți au produs anticorpi și fagii au fost excluși din circulație în decurs de patru zile. Zece dintre acești pacienți au prezentat anticorpi IgM, iar opt pacienți au produs atât IgM, cât și IgG. Alte studii cu folosirea fagului ϕ X174 au demonstrat că dozarea repetată de fagi nu este însoțită de reacții adverse.

În prezent, nu este clar dacă anticorpii antifagi ar putea preveni dezvoltarea rezistenței bacteriene la fagi și dacă imunitatea preexistentă la fagii naturali ar putea afecta terapia cu fagi. Nu există informații certe și despre impactul factorilor specifici fagilor asupra mecanismelor de eliminare a fagilor. Lacune există și în înțelegerea relevanței clinice a interacțiunii

imune a fagilor, imunogenitatea fagilor însă nu pare să reprezinte un risc semnificativ pentru siguranța pacienților.

Rapoartele despre efectele imune în studiile clinice care utilizează fagi virulenți sunt limitate. Este indispensabilă introducerea unor metode validate *in vitro* și *in vivo* pentru a determina comparabilitatea efectelor imune ale diversilor fagi și combinații de fagi. Aceste metode ar permite de a trage concluzii valide cu privire la valoarea parametrilor bazați pe imunitate pentru selecția fagilor, identificarea populațiilor de pacienți receptivi, schimbul de fagi și importanța cocktailurilor individualizate de fagi. Crearea fagilor mai puțin imunogeni reprezintă un domeniu de cercetare de viitor.

Terapia cu fagi – studii clinice

Până în prezent, studiile privind terapia cu fagi au fost în mare măsură empirice, utilizarea de rutină a fagilor fiind limitată la Georgia, Polonia și Rusia. Institutul George Eliava din Georgia are o experiență de lungă durată în selectarea, izolarea și prepararea cocktailurilor monofage și a fagilor împotriva unei varietăți de agenți patogeni bacterieni pentru terapia cu fagi. Timp de câteva decenii, aplicarea terapeutică a fagilor este studiată în cadrul Institutului de Imunologie și Terapie Experimentală din Polonia.

Succesele înregistrate la utilizarea fagilor în tratamentul infecțiilor umane sunt o dovadă a faptului că dezvoltarea terapiei cu fagi este o alternativă promițătoare pentru combaterea rezistenței bacteriilor la antibiotice.

În Franța, autoritatea națională de reglementare în domeniul sănătății a autorizat primul tratament al pacienților cu infecții rezistente la antimicrobiene și greu de tratat cu utilizarea terapiei cu fagi. Primele șase cazuri de diverse infecții bacteriene au fost tratate cu succes cu această terapie. Chiar dacă mai multe tratamente nu au fost efectuate folosind standarde clinice adecvate pentru aprobarea medicamentelor în lumea occidentală, ele au arătat potențialul terapeutic al fagilor și modul în care pot fi aplicați.

Noile produse terapeutice trebuie să treacă printr-un proces lung și complex care implică studii preclinice și clinice pentru a obține accesul pe piață. În SUA, timpul mediu pentru aprobarea unui nou medicament

din testele preclinice este de 12 ani, iar costurile se ridică la milioane de dolari din cauza duratei și complexității studiilor clinice umane. Din aceste motive, numărul de studii clinice ale terapiei cu fagi este foarte limitat. Unele dintre puținele studii clinice de terapie cu fagi sunt descrise în următoarele studii de caz.

Terapia cu fagi a combustibilor

Terapia cu fagi a fost aplicată în infecțiile de plagă la 27 de pacienți din spitalele din Franța și din Belgia folosind un cocktail de bacteriofagi virulenți anti-*Pseudomonas aeruginosa*. Pacienții au fost repartizați aleatoriu (1:1). La un grup a fost utilizat un cocktail din 12 bacteriofagi virulenți anti - *P.aeruginosa* (10^6 UFP/ ml), iar la celălalt grup s-a utilizat metoda standard de îngrijire (cremă cu emulsie de sulfadiazină de argint de 1%), iar calea de administrare a fost topică timp de șapte zile, cu 14 zile de supraveghere.

Trei (23%) dintre cei 13 pacienți tratați cu fagi au prezentat efecte adverse, în comparație cu șapte (54%) din cei 13 pacienți tratați standard. Bacteriile, izolate de la pacienții la care tratamentul cu fagi a eșuat, au fost rezistente la doze mici de fagi.

Acest studiu a demonstrat că tratamentul cu fagi a scăzut sarcina bacteriană în plăgile combustionale pe un termen mai îndelungat decât tratamentul standard, ceea ce justifică studiile de creștere a concentrației de fagi și utilizarea „fagogramelor” (cum sunt utilizate antibiogramele).

Tratamentul unui pacient cu septicemie și afectare acută a rinichilor

Un bărbat de 60 de ani a fost internat cu peritonită provocată de *Enterobacter cloacae* și sepsis abdominal sever, coagulare intravasculară diseminată, hernie și ocluzie intestinală. În urma tratamentului prelungit al acestor afecțiuni, pacientul a dezvoltat infecție anaerobă gazoasă și escare de decubit colonizate de *P. aeruginosa* rezistentă la antimicrobiene. Pacientul a urmat tratament cu colistină (singurul preparat la care tulpina era sensibilă), dar în scurt timp s-a diagnosticat afectarea acută a rinichilor și

tratamentul a fost suspendat. Ulterior s-a recurs la terapia cu fagi împotriva *P. aeruginosa*, utilizând un amestec din doi fagi activi împotriva izolatului *in vitro*. În urma terapiei cu fagi, funcționarea normală a rinichilor a fost restabilită după câteva zile, iar hemoculturile au fost negative. Însă escarele de decubit au rămas infectate cu *P. aeruginosa* și cu alte specii. Patru luni mai târziu, pacientul a dezvoltat un stop cardiac din cauza sepsisului provocat de *Klebsiella pneumoniae*, confirmat prin hemocultură.

Terapia cu fagi pentru infecții respiratorii

În literatura de specialitate sunt descrise mai multe studii preclinice cu utilizarea terapiei cu fagi în tratamentul infecțiilor pulmonare cronice modelate pe cobai. Pabary și coaut. au constatat că tratamentul cu fagi reduce numărul de bacterii și răspunsul inflamator în plămâni cobailor. Investigatiile bacteriologice au arătat lipsa izolării *P. aeruginosa* după 24 de ore la toate animalele tratate cu fagi, în timp ce infecția a persistat la toate animalele de control. Fagii au redus, de asemenea, infecția și inflamația în lichidul de lavaj bronhoalveolar atunci când a fost administrat profilactic.

Într-un alt studiu, tratamentul intranasal cu fagi a salvat șoarecii de pneumonia provocată de *A. baumannii*. Tomografia microcomputerizată a indicat o reducere a inflamației pulmonare la șoarecii cărora li s-a administrat fagi.

Terapia cu fagi efectuată *in vivo* pe șoareci cu infecție pulmonară cronică asociată cu formarea de biofilme a dat rezultat pozitiv la a șaptea zi după infecție. Acest studiu a stabilit potențialul terapiei cu fagi în infecțiile cronice și recalcitrante ale tractului respirator.

În Georgia, un pacient de șapte ani cu fibroză chistică a prezentat colonizare cronică cu *P. aeruginosa* și cu *S. aureus*. Terapia cu fagi a fost aplicată folosind un cocktail de fagi „Pyo phage” produs de Institutul Eliava, care conține fagi activi împotriva *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa* și *E. coli*. Cocktailul a fost administrat pacientului prin nebulizator la intervale de patru până la șase săptămâni pentru nouă runde de tratament. Numărul de *P. aeruginosa* s-a redus considerabil, spre deosebire de *S. aureus*. Cocktailul de fagi Pyo a fost completat cu fagul Sb-1

(un fag care vizează *S. aureus*), fiind apoi administrat de cinci ori. Acest tratament a redus semnificativ concentrația de *S. aureus*. Efecte adverse la tratamentul cu fagii Sb-1 nu au fost înregistrate.

Administrarea fagilor prin aerosoli permite pătrunderea unui număr mai mare de fagi în plămâni (până la 10^8 UFP/aspirație), ceea ce poate îmbunătăți considerabil rezultatele clinice pentru infecțiile respiratorii. Studiile au demonstrat că un cocktail de zece fagi a scăzut semnificativ numărul de *P. aeruginosa* în probele de spută la 58 de pacienți cu fibroză chistică. 48 din 58 de probe au fost pozitive pentru *P. aeruginosa*, iar administrarea de fagi a scăzut semnificativ concentrațiile de *P. aeruginosa* în spută. O creștere a numărului de bacteriofagi a fost detectată și în 45,8% din aceste probe, demonstrând potențialul terapiei active cu fagi a infecțiilor respiratorii *in vivo*.

Terapia cu fagi pentru infecțiile tractului urinar

Terapia cu fagi pentru tratarea infecțiilor tractului urinar (ITU) este una dintre cele mai promițătoare aplicații pentru fagi și una dintre puținele care au fost studiate într-un studiu clinic în mai multe etape. În prima etapă a studiului, 130 de pacienți planificați pentru rezecția transuretrală a prostatei au fost examinați pentru ITU dintre care 118 au fost incluși în studiu. Criteriile de includere în studiu au fost cantitatea de microorganisme din urină $\geq 10^4$ UFC/ml de *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus* spp., *P. aeruginosa* sau *Proteus mirabilis*. Screeningul inițial *in vitro* al cocktailului de fagi Pyo, un produs comercial produs de Institutul Eliava, împotriva acestor culturi a arătat că sensibilitatea a fost de 41% (48/118). Experimental, prin evoluție direcționată, au fost utilizați în cocktail fagii selectați cu un diazon mai mare de gazde, iar sensibilitatea a fost mărită la 75% (88/118).

În etapa a doua, nouă pacienți cu infecții cauzate de bacterii sensibile la cocktailul Pyo au fost supuși terapiei cu fagi. Fagii au fost administrați printr-un cateter suprapubian câte 20 ml în concentrații de 10^7 - 10^9 UFP/ml, de două ori la fiecare 24 de ore timp de șapte zile, începând cu prima zi după intervenția chirurgicală. Urina a fost investigată bacteriologic la șapte zile după intervenția chirurgicală sau la momentul reacțiilor adverse.

Înainte de terapie, din urina pacienților au fost izolate tulpini de *E. coli* în patru cazuri, *Enterococcus* spp. – în două cazuri, *Streptococcus* spp. – în două cazuri și *P. aeruginosa* – într-un caz. După terapie, titrurile agenților patogeni au scăzut cu log1-5 UFC/ml la șase din nouă pacienți. După investigația microbiologică a urinei, într-un caz din cele patru cazuri de infecție cu *E. coli* urina a fost sterilă, într-un caz din cele două cazuri de infecție cu *Streptococcus* spp. urina a fost sterilă, într-un caz din cele două cazuri de infecție cu *Enterococcus* spp. urina a fost sterilă, iar în alt caz a fost izolată *E. coli*. La pacientul cu *P. aeruginosa*, deși luase antibiotice, deoarece făcuse febră și devenise asimptomatic, bacteria a fost detectată în urină. Efecte adverse ale terapiei cu fagi nu au fost detectate. Autorii studiului speră să promoveze această lucrare la studii de control randomizate.

Tratamentul ulcerelor trofice

Un studiu de fază I de terapie cu fagi a fost organizat pe un lot din 42 de pacienți cu ulcere venoase cronice ale membrelor inferioare. Ulcerele au fost tratate timp de 12 săptămâni cu un cocktail de fagi (WPP-201; 8×10^7 UFP/ml) care a inclus *P. aeruginosa*, *S. aureus* și *E. coli*. Pacienții au fost supravegheați 24 de săptămâni, timp în care nu au fost înregistrate reacții adverse. Diferențe semnificative pentru rata sau frecvența vindecării ulcerului între grupul la care s-a aplicat terapia cu fagi și grupul martor nu au fost înregistrate. Eficacitatea preparatului trebuie evaluată într-un studiu de eficacitate de faza a II-a.

Terapia infecției cu *A. baumannii* rezistent la antimicrobiene a unui pacient cu craniectomie

Un bărbat de 77 de ani, în urma unei altercații a dezvoltat hematom subdural și traumă craniocerebrală, fiind supus craniectomiei. Ulterior, pacientul a dezvoltat infecție intracraniană postoperatorie cu *A. baumannii* rezistent la toate preparatele antimicrobiene. După multiple testări a diferitor bacteriofagi pe tulpina izolată a fost determinat fagul cel mai activ.

Fagii ($2,1 \times 10^7$ UFP/ml) au fost administrați intravenos printr-un cateter venos la fiecare două ore timp de opt zile, total fiind administrate 98 de

doze. În urma tratamentului cu fagi, locul craniectomiei și lamboul de piele s-au vindecat, deși febra și leucocitoza au persistat. Alte semne de infecție la locul intervenției chirurgicale după debridarea chirurgicală nu au existat. Înainte de a primi al doilea cocktail de fagi, familia pacientului a renunțat la tratament și pacientul a decedat.

Autorii studiului au concluzionat că administrarea fagilor prin drenul chirurgical ar fi avut, probabil, mai multe beneficii decât administrarea parenterală. Fagii cu activitate mai largă asupra diverselor tulpini puteau fi mai eficienți și rezultatul ar fi fost mai favorabil dacă terapia cu fagi personalizați ar fi fost aplicată în timpul infecției.

Rezistența la fagi

Un aspect important în terapia cu fagi este potențialul de rezistență al bacteriilor la aceștia. Bacteriile rezistente la fagi au fost puse în evidență în 80% din studiile care vizează intestinul și în 50% din studiile pe modele de sepsis.

Rezistența spontană la fagi, precum și cea la antibiotice, se poate dezvolta prin diverse mecanisme. De exemplu, receptorii-țintă de pe suprafața celulei bacteriene pot să nu fie exprimați sau pot suferi mutații, cauzând astfel o pierdere completă a adsorbției sau o adsorbție scăzută. Aceasta este o limitare atât a terapiei cu fagi, cât și a terapiei antimicrobiene. Pentru ambele abordări, cunoașterea site-urilor receptorului, stabilitatea și păstrarea acestora printre tulpini va contribui la atenuarea rezistenței la fagi.

Rezistența dobândită la fagi este un alt domeniu care trebuie studiat pentru ambele abordări terapeutice. Elementele genetice suplimentare, cum ar fi plasmidele, fagii temperați și elementele genetice mobile, pot purta gene care codifică rezistența la antibiotice. Pentru fagi, rezistența dobândită poate cuprinde sistemele CRISPR-Cas, proteinele imunitare produse de fagii temperați (deși rar) și achiziția de sisteme de restricție a modificării ADN-ului.

Pentru a preîntâmpina dezvoltarea rezistenței bacteriilor la fagi, un element cheie este utilizarea cocktailurilor din fagi. Utilizarea mai multor fagi, fiecare ținând receptori diferiți și aparținând diverselor clase genetice,

va spori capacitatea de a atenua pierderea mecanismelor de adsorbție sau de protecție genetică a gazdei. Ingineria genetică poate oferi mijloace pentru îmbunătățirea diversității și eficienței de țintire a fagilor pentru evitarea rezistenței. O altă viziune este că mutațiile bacteriene care conferă rezistență la fagi deseori duc la pierderea adaptării bacteriei rezistente.

Ingineria genetică și alte tehnologii pentru terapia cu fagi

Descoperirea secvențierii întregului genom și a metagenomicii au crescut rapid numărul de fagi secvenționați ceea ce deschide noi perspective de cunoaștere genetică a acestora. Utilizarea acestor noi cunoștințe pentru ingineria fagilor poate crește utilitatea lor în terapie. La moment există argumente suplimentare, cum ar fi etice, de siguranță și cerințe normative, care trebuie luate în considerare mai presus decât cele ale terapiei cu fagi. Ingineria genetică poate fi utilizată pentru a obține noi variante de fagi cu o gamă mai mare de gazde, scăzând numărul de tulpini de fagi necesare pentru a acoperi diversitatea bacteriană și generând variante patentabile de fagi. De exemplu, specificitatea de gazdă a fagului T2 față de *E. coli* K12 a putut fi schimbată experimental prin substituirea genelor cu cele ale fagului PP01 specific pentru *E. coli* O157:H7. Fagul recombinant a fost capabil să infecteze *E. coli* O157:H7 și tulpinile înrudite, dar nu a putut infecta *E. coli* K12 sau derivații săi. În mod similar, o astfel de recombinare a fost utilizată pentru a înlocui genele 37 și 38 din genomul fagului T2 cu cele ale fagului IP008. Fagul T2 recombinant a avut gazde identice cu cele ale fagului IP008.

Ingineria genetică a fagilor permite adăugarea unor funcții noi, cum ar fi bacteriocine, enzime, inhibitori ai cvarum sensing, CRISPR și enzime de degradare a biofilmelor. Fagii pot fi modificați folosind nucleaza Cas9 ghidată de ARN pentru a crea antimicrobiene specifice secvenței. Cas9 a fost reprogramată pentru a ținti genele de virulență și a omorî tulpinile virulente, dar nu și cele avirulente de *S. aureus*.

Un alt studiu a folosit tehnologia CRISPR-Cas pentru a crea nucleaze ghidate de ARN furnizate de fagi pentru a ținti secvențe specifice de ADN din *Enterobacteriaceae* rezistente la carbapeneme și *E. coli* enterohemo-

ragice. Sistemele CRISPR-Cas transferate de fagi pot fi utilizate pentru a permite clivajul specific țintei, pentru a induce citotoxicitatea, a activa sistemele toxină-antitoxină, precum și pentru a resensibiliza populațiile bacteriene la antibiotice.

Biofilmele sunt cauza majoră a infecțiilor persistente în condiții de spital, din aceste considerente tratamentul cu fagi pentru liza bacteriilor din biofilme a atras un interes sporit. Astfel a fost creat fagul T7 modificat, care codifică enzima lactonaza, ce posedă activitate înaltă de inhibare a moleculelor sensibile la cvorum, necesare pentru formarea biofilmului. Fagul T7, care conține gena AHL lactonaza (aiiA) din *Bacillus anthracis*, a degradat AHL din diverse bacterii și a provocat inhibarea unui biofilm mixt format de *P. aeruginosa* și *E. coli*. Într-un alt studiu, o enzimă de degradare a biofilmului, DspB, produsă de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, a fost inserată în genomul T7, iar fagul rezultat a redus numărul de celule în biofilmul produs de *E. coli*.

Componentele sistemului imunitar înăscut pot elimina o parte semnificativă din fagii administrați. Studiile au demonstrat că pot fi obținuți fagi mutanți care circulă îndelungat și pot fi utilizați pentru a soluționa această problemă. Astfel, o singură substituție specifică în proteina principală a capsidului fagice (E) a fagului lambda Argo a fost suficientă pentru a obține un fenotip cu circulație îndelungată care a îmbunătățit de 1000 de ori supraviețuirea fagului în sistemul circulator al șoarecelui. Unii cercetători au folosit o metodă de selecție a pasajelor pentru a izola mutanții fagilor cu o capacitate mai mare de a rămâne în sistemul circulator al șoarecelui. Au fost izolați mutanții de fagi Lambda cu o capacitate de 13 000-16 000 ori mai bună de a rămâne în sistemul circulator al șoarecelui timp de 24 de ore după injectarea intraperitoneală.

Multe antibiotice, precum și terapia cu fagi, pot prezenta efecte adverse ca urmare a eliberării de endotoxine la distrugerea bacteriilor gram-negative. Pentru a soluționa această problemă, ingineria genetică a fost utilizată pentru a genera fagi nonlitici ce nu se replică, care vizează *P. aeruginosa*. O genă a proteinei de export a fagului filamentos Pf3 *P. aeruginosa* a fost înlocuită cu o genă de restricție, iar varianta obținută (Pf3R) a fost

nereplicativă și a prevenit eliberarea fagului din celula-țintă. Eliberarea de endotoxină a fost menținută la minimum și fagul Pf3R a omorât eficient o tulpină sălbatică *in vitro*. Terapia cu fagi folosind Pf3R a arătat rate de supraviețuire comparabile sau crescute (în funcție de doză) în comparație cu Pf3. Ratele de supraviețuire mai mari au fost corelate cu un răspuns inflamator redus la utilizarea tratamentului cu Pf3R.

Cercetătorii au produs, de asemenea, fagi T4 cu deficit de liză în acest scop. Fagii mutanți A3 T4 au fost comparați cu T4 de tip sălbatic în modelul de peritonită bacteriană la șoareci. Supraviețuirea a fost semnificativ mai mare la șoarecii tratați cu fagul cu deficit de liză în comparație cu cei de tip sălbatic, iar nivelurile de enterotoxină au fost semnificativ mai scăzute la șoarecii tratați cu fagii A3 T4 la 12 ore după infecție.

Avantajele și dezavantajele terapiei cu fagi

Comparativ cu terapia cu antibiotice, terapia cu fagi posedă atât o serie de mari avantaje, dar și unele dezavantaje.

Avantaje cheie. Terapia cu fagi are mai multe avantaje cheie care o fac o alternativă atractivă a antibioticelor. Fagii posedă o specificitate înaltă pentru gazdele lor și, spre deosebire de antibiotice, care au un spectru mult mai larg, este puțin probabil să provoace disbioze și infecții secundare (de exemplu, infecții fungice). Până în prezent, fagii nu au prezentat efecte secundare semnificative sau riscuri de toxicitate asupra celulelor mamiferelelor.

Procesul de izolare și de selecție a noilor fagi este mai puțin costisitor, din punct de vedere al timpului și al costurilor, decât procesul de dezvoltare necesar pentru antibiotice: milioane de dolari și mulți ani pentru a dezvolta un antimicrobian eficient.

Dezvoltarea rezistenței bacteriilor la terapia cu fagi este mai puțin semnificativă decât în cazul antibioticelor din cauza capacității de a adapta cocktailurile de fagi prin înlocuirea fagilor, aplicând presiune evolutivă *in vitro* sau prin inginerie genetică.

Fagii sunt capabili să distrugă cu succes bacteriile multirezistente la antibiotice, deoarece folosesc diferite mecanisme pentru țintirea celulelor.

Capacitatea fagilor de a se răspândi prin organism atunci când sunt administrați sistemic și autoreplicarea în celulele-gază sunt calități pe care majoritatea antibioticelor nu le au. Spre deosebire de antibiotice, fagii pot trece și prin bariera hematoencefalică, iau unii fagi se pot infiltra și în biofilmele bacteriene, perturbându-le.

Pentru pacienții alergici la antibiotice, aproximativ 1% dintre pacienții internați au alergii la preparatele din grupul penicilinei, cea mai frecventă alergie la antibiotice, urmată de alergiile la sulfonamide și tetraciline, opțiunile de tratament pot fi restricționate, iar terapia cu fagi poate fi o opțiune valoroasă pentru aceștia. De exemplu, 12 pacienți cu plăgi infectate ale țesuturilor moi și cu alergii la antibiotice (nespecificate) au fost tratați cu ajutorul terapiei cu fagi polivalenți (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* și *K. pneumoniae*) timp de 15 zile. Concentrațiile bacteriilor în zonele de vindecare a plăgilor au fost similare în grupul de tratați cu fagi și în grupul de control, 35 de pacienți care au primit antibiotice. Conform rezultatelor tratamentului, fagii au fost o metodă fiabilă pentru reducerea infecției microbiene și tratamentul a dus la epitelizarea rapidă a plăgilor.

Dezavantaje cheie. În prezent, există câteva dezavantaje cheie în utilizarea fagilor ca alternative pentru antibiotice determinate, în principal, de lacunele în cunoștințe și în reglementări, care pot fi soluționate în viitor. Lipsesc informații despre aplicarea clinică a fagilor pentru controlul infecțiilor bacteriene, există numeroase provocări privind obținerea aprobărilor pentru aplicarea terapeutică a fagilor, în comparație cu terapiile tradiționale.

Nu există protocoale stabilite și validate privind căile de administrare, doza, frecvența și durata tratamentului cu fagi, ceea ce împiedică compararea studiilor.

Puritatea și stabilitatea preparatelor fagice utilizate pentru studiile clinice sunt deseori incerte, fiind prezentate date insuficiente de control al calității. Concentrația fagilor poate fi redusă semnificativ în timpul terapiei de către sistemul reticuloendotelial sau fagii pot fi neutralizați de anticorpi, inhibând astfel activitatea lor antimicrobiană. Cu toate acestea, efectul an-

ticorpilor de neutralizare a fagilor poate fi atenuat prin stabilirea regimurilor de dozare și selectarea fagilor, pentru a evita sistemul imunitar.

Biosecuritatea genetică a fagilor este greu de evaluat. Fagii utilizați în scopuri terapeutice nu trebuie să conțină toxine sau gene de virulență, gene de rezistență la antibiotice sau să fie capabili să transfere orizontal gene în microflora umană. Cu toate că secvențierea întregului genom este un instrument important pentru a efectua astfel de investigații, nu există încă un consens în ceea ce privește funcțiile tuturor genelor codificate de fagi.

CAPITOLUL 9.

RELAȚIA DINTRE STRESUL OXIDATIV ȘI FENOMENUL DE REZISTENȚĂ LA ANTIBIOTICE

Cornelia LAZĂR, dr. șt. med., conf. univ.,
Catedra de biochimie și biochimie clinică
Olga TAGADIUC, dr. hab. șt. med., prof. univ.,
Catedra de biochimie și biochimie clinică

Evoluția rapidă a rezistenței la antimicrobiene constituie o problemă majoră de sănătate publică, reducând eficacitatea antibioticelor și crescând dificultatea tratării infecțiilor, estimându-se global, din această cauză, 10 milioane de decese pe an până în 2050.

Astfel, rezistența la antibiotice și infecțiile cauzate de bacterii multirezistente sunt probleme de sănătate recunoscute la nivel mondial. Una dintre cauzele identificate de specialiștii din domeniu este posibilitatea agenților patogeni intracelulari de a răspunde la stresul oxidativ generat de macrofage, dobândind în același timp și abilitatea de a rezista la antimicrobiene, ceea ce reprezintă o problemă importantă pentru sănătatea umană.

Capacitatea ROS (specii reactive de oxigen) atât de a nimici celulele bacteriene, cât și, în unele cazuri, de a le conferi protecție, evidențiază rolul complex pe care îl pot avea ROS în răspunsul bacterian ca rezultat al expunerii la antibiotice. Astfel, rolul ROS în toleranța și rezistența la antibiotice este unul polivalent, în literatura de specialitate fiind descrise exemple de cazuri în care acestea ar avea un potențial rol protector, neutru sau dăunător asupra celulelor procariote, cel mai probabil aceste rezultate având o legătură directă cu tipul de antibiotic evaluat, specia din care face parte celula bacteriană, cantitatea de ROS produsă și mediul în care se desfășoară reacțiile metabolice (aerob sau anaerob).

Bacteriile sunt expuse la diferite specii reactive de oxigen și de azot sintetizate de celulele imune în timpul fagocitozei. Unii agenți patogeni sunt capabili să facă față condițiilor oxidative și să colonizeze mediul in-

tracelular. Prin urmare, este foarte probabil ca unele căi moleculare, care mențin homeostazia redox în aceste bacterii, să fie folosite pentru a contracara stresul oxidativ în timpul colonizării celulelor umane, iar datorită mecanismelor prin care se asigură protecția împotriva stresului oxidativ, agenții patogeni bacterieni intracelulari să provoace o gamă mare de afecțiuni cu morbiditate și mortalitate înaltă la oameni.

Studiile sugerează că letalitatea antibioticelor este mediată, pe lângă mecanismele tradiționale de acțiune, și de speciile reactive de oxigen produse din cauza modificărilor metabolismului bacterian, respirației și dezechilibrului homeostaziei fierului. De exemplu, expunerea *P. aeruginosa* la antibiotice i-a accelerat moartea prin intensificarea reacției Fenton, în care HO• (radicalul hidroxil) este generat prin reacția dintre Fe²⁺ și H₂O₂ (peroxidul de hidrogen). Antibioticele, de exemplu aminoglicozidele, perturbă sinteza proteinelor și produc și cantități mari de radicali hidroxil, care induc stres oxidativ.

Recent, teoria bazată pe producerea de ROS cu scopul eliminării agenților patogeni a fost reevaluată din cauza faptului că ROS pot deteriora direct ADN-ul (acidul dezoxiribonucleic), ducând la mutații care vizează ținte specifice ale unor antibiotice și, astfel, facilitând dezvoltarea rezistenței la mai multe antimicrobiene.

Cercetătorii au evidențiat că generarea de ROS datorită expunerii *E. coli* la concentrații subletale de antibiotice a crescut ratele de mutație ale acestora din cauza leziunilor oxidative ale ADN-ului și a condus la apariția MDR (rezistență la mai multe medicamente). În plus, s-a demonstrat că expunerea neletală la H₂O₂ a sporit evoluția populațiilor bacteriene prin îmbunătățirea supraviețuirii în condiții de stres oxidativ. A fost descoperit faptul că expunerea bacteriilor la un nivel scăzut de H₂O₂ a indus mai multe enzime cu un timp de înjumătățire lung care erau implicate în captarea și neutralizarea ROS, protejând ulterior celulele la o expunere repetată.

Stresul oxidativ și sistemul antioxidant

Stresul oxidativ apare atunci când cantitatea prooxidanților o depășește pe cea a antioxidantilor, adică ROS se acumulează într-o celulă bacte-

riană și depășește capacitatea acesteia de a-i detoxifica cu ușurință. Acest lucru se poate întâmpla în timpul răspunsului imun al gazdei sau datorită tratamentului cu un antimicrobian care este implicat în generarea de ROS (de exemplu, la utilizarea nitrofurantoinii sau polimixinei B).

Stresul oxidativ este definit ca „un dezechilibru dintre prooxidanți și antioxidanți cu o perturbare asociată a circuitelor redox și daune macromoleculare” sau „ca perturbarea echilibrului dintre producerea de specii reactive de oxigen și capacitatea antioxidanților de a neutraliza efectele nocive ale acestora”.

În prezent, conceptul de stres oxidativ a fost extins pentru a cuprinde și procesele de semnalizare și, din această cauză, a fost înlocuit în unele publicații cu *biologia redox*. Acest domeniu de cunoaștere poate fi împărțit în două subdomenii majore: **eustres**, care reprezintă stresul oxidativ ce se realizează cu scopuri metabolice și care este esențial pentru semnalizarea redox, și **distres**, care este considerat o producere în exces de oxidanți care pot provoca leziuni celulare.

Stresul oxidativ poate fi endogen sau exogen. Interacțiunea gazdă-patogen provoacă stres oxidativ exogen în bacterii, în timp ce reacțiile redox intracelulare, antibioticele și respirația aerobă contribuie la stresul oxidativ endogen. Oxigenul este acceptorul final de electroni în respirația aerobă, iar reducerea sa completă formează apă. Atunci când oxigenul intră în contact cu flavoproteine precum oxidazele și monooxigenazele, și suferă o reducere incompletă, se generează ROS în loc de apă. Schema producerii unor specii reactive de oxigen și de azot (anionul superoxid, peroxidul de hidrogen, radicalul hidroxil, peroxinitritul) și înlăturarea acestora de către unele enzime antioxidante este ilustrată în Figura 1.

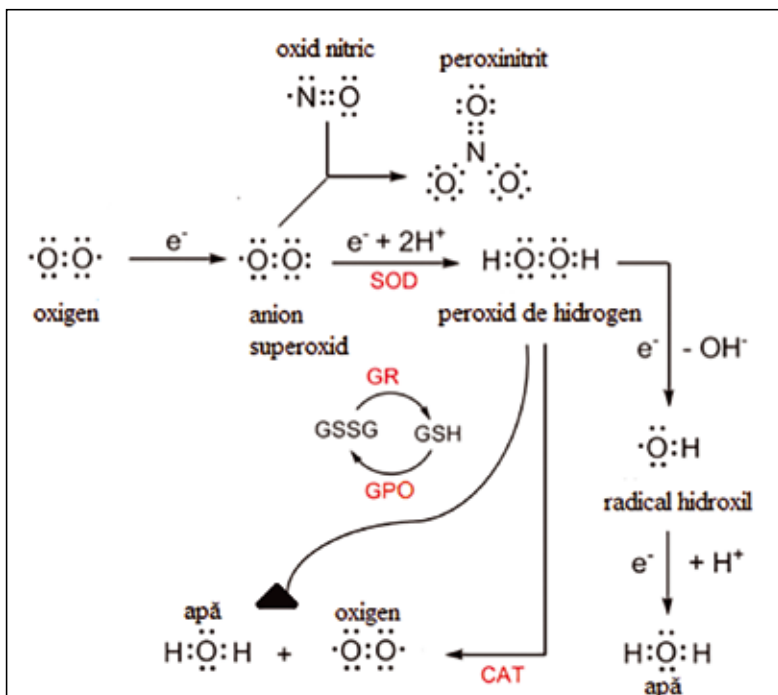


Figura 1. Schema producerii unor specii reactive de oxigen și de azot, și înlăturarea acestora de către unele enzime antioxidante (modificată de noi după Reiter R.J., et al.).

Notă: SOD – superoxid dismutaza, CAT – catalaza, GPO – glutation peroxidaza, GR – glutation reductaza, GSH – glutation redus, GSSG – glutation oxidat

Sinteza speciilor reactive de oxigen și de azot este declanșată în timpul fagocitozei cu scopul de a genera un stres oxidativ bactericid. Există diferite enzime implicate în acest proces, cum ar fi NADPH oxidazele, nitric oxid sintazele inductibile, superoxid dismutazele și mieloperoxidazele.

NADPH oxidazele generează anionul superoxid ($O_2^{\cdot-}$). Acesta este dismutat la peroxid de hidrogen (H_2O_2) de către superoxid dismutaze, care este apoi transformat în H_2O și O_2 de către catalaze, așa cum este ilustrat în Figura 1.

Enzimele importante implicate în procesele de neutralizare a ROS, atât superoxid dismutazele, cât și catalazele, sunt considerate și factori importanți de virulență ai multor agenți patogeni intracelulari.

Peroxidazele (peroxiredoxinele și glutathion peroxidazele) sunt enzime care au, de asemenea, un rol important în neutralizarea H_2O_2 , activitatea lor fiind utilă în contracararea efectelor negative ale acestei ROS.

Totuși, cercetătorii au evidențiat și faptul că H_2O_2 produs în timpul fagocitozei nu întotdeauna este captat de enzimele antioxidante specifice pentru a fi descompus, fiind capabil să treacă prin membranele bacteriene și să interacționeze cu:

- Fe^{2+} , care este oxidat în timpul reacției Fenton de către H_2O_2 , iar acest proces generează $HO\bullet$ (radical hidroxil), care provoacă daune suplimentare proteinelor bacteriene, ADN-ului și lipidelor;
- grupările tiol (-SH) ale proteinelor, ceea ce poate inactiva enzimele esențiale pentru supraviețuirea agentului patogen;
- ionul de clor (Cl^-), sub acțiunea mieloperoxidazelor, care sunt exprimate în principal în macrofage și neutrofile, generând acidul hipocloros, care are o activitate antibacteriană mai mare decât H_2O_2 , deteriorând proteine importante care asigură supraviețuirea intracelulară a agentului patogen.

Nitric oxid sintazele inductibile sunt activate în stadiile ulterioare ale fagocitozei, aceste enzime producând oxid nitric ($NO\bullet$) din L-arginină. Oxidul nitric poate interacționa cu anionul superoxid pentru a produce peroxinitrit ($ONOO^-$), așa cum este ilustrat în Figura 1.

Peroxinitritul poate oxida direct grupările tiol ale aminoacizilor și, în plus, acesta poate fi descompus în dioxid de azot și radical hidroxil, care pot reacționa activ și cu radicalii aminoacizilor care conțin sulf ai proteinelor bacteriene, deteriorându-le.

Celulele bacteriene sunt capabile și ele să producă ROS. Se crede că enzimele flavoproteice sunt sursele primare de $O_2^{\bullet-}$ și de H_2O_2 endogeni. S-a demonstrat că ROS sunt generate în principal prin autooxidarea flavoproteinelor reduse care nu sunt implicate în lanțul respirator, deoarece s-a constatat că mutații bacterieni lipsiți de componente respiratorii de

asemenea au fost capabili să producă ROS. Un exemplu de astfel de enzimă este fumarat reductaza. Aceasta reacționează rapid cu oxigenul și se crede că este sursa majoră de stres oxidativ atunci când bacteriile facultativ anaerobe ajung în medii aerobe. Această constatare este importantă, deoarece autooxidarea depinde de frecvența interacțiunii dintre enzime și oxigen, concentrațiile mai mari de oxigen conducând la creșterea producției de ROS.

Agenții de oxidare sunt molecule cu greutate moleculară mică care pot pătrunde cu ușurință prin membrana sau peretele celular al celulelor bacteriene, generând leziuni intracelulare. Datorită efectului lor antimicrobian, unii oxidanți au fost utilizați pentru eradicarea agenților patogeni. Printre cele mai obișnuite exemple de oxidanți folosiți ca și dezinfectanți sunt peroxidul de hidrogen și acidul hipocloros. Aceștia sunt produși și de sistemul imunitar al gazdei cu scopul apărării împotriva patogenilor. Deși reactivitatea acestor molecule poate varia, ele au multe moduri comune de acțiune care au ca și rezultat oxidarea (1) proteinelor și enzimelor, ceea ce duce la întreruperea sintezei altor proteine și enzime, inclusiv și a ADN-ului, (2) lipidelor, conducând la destabilizarea membranelor, și (3) acizilor nucleici, care provoacă rupturi ale catenelor de ADN etc. Deci, speciile reactive de oxigen și de azot lezează o serie de macromolecule celulare bacteriene și, pentru a supraviețui, în aceste celule pot apărea răspunsuri adaptive la stresul oxidativ declanșat.

Răspunsul bacterian la stresul oxidativ

Bacteriile se pot adapta la condiții dăunătoare care induc răspunsuri generale și specifice la deteriorarea ADN-ului, precum și la stresul acid, la căldură, la frig, la foame, la stres oxidativ etc.

Dacă generarea de ROS este considerată un mecanism comun de inducere a letalității bacteriilor de către antibiotice, atunci este de așteptat ca protecția împotriva ROS să fie una dintre trăsăturile comune pentru rezistența bacteriană împotriva antibioticelor. Se postulează ideea că antibioticul bactericid mediază dobândirea rezistenței *de novo*, care, apoi, oferă protecție împotriva acumulării de ROS la expunerea la un alt tip de antibiotic.

Agenții patogeni care produc enzime de detoxifiere a ROS suferă mai multe modificări celulare, metabolice și fenotipice pentru a reduce daunele celulare cauzate de stresul oxidativ intens, atunci când sunt expuși la antibiotic.

Reglarea genelor implicate în răspunsul de apărare bacteriană este complexă, dar limitată la regulatorii care pot identifica în mod direct nivelurile de ROS și pot activa transcripția genei specifice. Cercetătorii menționează doi regulatori majori: SoxR – care detectează anionul superoxid și OxyR – care percepe peroxidul de hidrogen, având roluri esențiale în reglarea genelor în condiții de stres oxidativ. Acești regulatori de transcripție contribuie la crearea condițiilor pentru ocolirea răspunsurilor imune ale gazdei și pentru dobândirea rezistenței la antibiotice prin reglarea directă a sintezei proteinelor specifice.

Astfel, s-a constatat că răspunsul bacterian la ROS este reglat de factori de transcripție care controlează expresia genelor asociate cu apărarea antioxidantă (și anume cele pentru superoxid dismutază, catalază, tioredoxine, biosinteza a hemului, glutatation reductaze, regulatorul captării ferice, bacterioferitina). Un exemplu elocvent este situația când bacteriile se confruntă cu o cantitate crescută de anioni superoxid și crește transcripția genelor, precum *sodA* și *sodB*, care produc superoxid dismutază pentru a proteja celulele de efectul letal al ROS [3]. Un alt exemplu reliefat la *E. coli* este oxidarea OxyR de către H_2O_2 , ceea ce duce la modificări structurale prin formarea unei legături disulfidice intramoleculare. OxyR oxidat reglează pozitiv catalazele și peroxidazele. Astfel, răspunsul la stresul oxidativ mediat de OxyR are ca rezultat eliminarea H_2O_2 și atenuarea toxicității acestui produs secundar al metabolismului aerob.

Oxidantii, expunerea la antibiotice etc. pot determina apariția leziunilor ADN-ului bacterian. Răspunsul SOS este un răspuns al bacteriilor la stres indus, în principal, de deteriorarea ADN-ului, fiind un sistem de reparare a daunelor ADN-ului care este asociat cu adaptabilitatea și patogenitatea bacteriilor, răspunsurile SOS jucând un rol cheie în infecțiile bacteriene cronice și în rezistența la antibiotice prin mutagenază și rearanjare genomică. Răspunsul SOS este declanșat inițial de un ADN monocatenar

anormal, care se leagă de RecA. Complexul ADN monocatenar anormal/RecA stimulează clivajul proteolitic al represorului LexA, LexA și RecA fiind regulatori SOS care sunt implicați în expresia genelor care codifică diferite proteine implicate în repararea ADN-ului.

Remodelarea metabolismului bacterian constituie alt un factor important ce asigură diminuarea leziunilor cauzate de ROS.

Câteva exemple de remodelare a metabolismului la bacterii sunt: (a) activarea șuntului glixilatului care reduce formarea endogenă de ROS [3, 7] prin micșorarea cantității de NADH (nicotinamid adenin dinucleotid redus) produs în mod obișnuit în ciclul Krebs și, concomitent, cu diminuarea intensității respirației celulare, (b) redirectionarea metabolismului către șuntul pentozo-fosfat și creșterea producerii de NADPH (nicotinamid adenin dinucleotid fosfat redus), care participă la refacerea nivelului de antioxidanți, dar și (c) decarboxilarea non-enzimatică a piruvatului și α -cetoglutaratului.

ROS sunt arme cheie utilizate de celulele-gazdă pentru asigurarea distrugerii intrușilor bacterieni. Însă, în același timp, dovezile recente sugerează că ROS din celulele-gazdă induc toleranță la antibiotice în timpul infecției. Astfel, s-a stabilit că ROS generate de către macrofage vizează enzime ale ciclului Krebs – aconitaza și succinat dehidrogenaza, modulând activitatea metabolică a *S. aureus* care, în aceste condiții, se va afla într-o stare metabolică cu respirație redusă, incompatibilă cu mecanismul de acțiune microbicid al majorității antibioticelor bactericide.

Fierul este esențial pentru fiecare organism, iar bacteriile nu fac excepție, acesta fiind esențial pentru creșterea și supraviețuirea lor. Fierul este prezent în proteinele bacteriene sub formă de clustere [Fe-S] și în hemuri. În condiții aerobe și la pH fiziologic fierul este prezent în stare Fe^{3+} și formează hidroxizi insolubili și precipitate de oxihidroxid. În același timp, poate fi implicat în generarea de ROS prin reacția Fenton și, respectiv, în stresul oxidativ.

În condiții de reducere dramatică a fierului, bacteriile produc siderofori pentru a facilita absorbția acestui microelement, cunoscuți fiind și ca niște chelatori ai acestui mineral. Odată secretați în mediu, sideroforii lea-

gă fierul și-l importă în citoplasma bacteriană prin intermediul receptorilor membranari specifici.

Numeroase bacterii au dezvoltat sisteme diferite de captare a fierului, având capacitatea de a folosi sideroforii proprii și heterologi. Pe lângă această funcție importantă există tot mai multe dovezi care atribuie sideroforilor roluri suplimentare care ar putea explica potențialele avantaje adaptative exprimate la unele microorganisme ce includ combaterea stresului oxidativ. Exemple de astfel de siderofori care cresc rezistența la stresul oxidativ sunt stafiloferina A și B sau enterobactina.

În general, așa cum a fost menționat anterior, biosinteza sideroforilor este reglată, în primul rând, de disponibilitatea fierului, dar există dovezi că sinteza lor poate fi influențată și de alți stimuli, în special de agenți care mediază apariția leziunilor oxidative.

Rolul protector împotriva stresului oxidativ raportat pentru unii siderofori este realizat prin prevenirea desfășurării reacției Fenton prin chelarea fierului și, prin urmare, prin indisponibilitatea acestui microelement pentru implicare în această reacție. De asemenea, în studii a fost demonstrat că enterobactina asigură protecție intracelulară împotriva stresului oxidativ și că această protecție este independentă de disponibilitatea fierului. Efectul de protecție împotriva ROS ar fi rezultatul capacității enterobactinei de a stabiliza direct radicalii prin grupele sale hidroxil legate de inelele aromatice. După ce ajunge în citoplasmă, enterobactina, pentru a asigura protecție împotriva stresului oxidativ, este hidrolizată, ceea ce expune grupările hidroxil ale acesteia, care ar capta radicalii și, prin urmare, ar reduce stresul oxidativ.

Un alt aspect al răspunsului adecvat și adaptat al bacteriilor la stresul oxidativ generat în urma răspunsului imun al gazdei, precum și de tratamentul cu antibiotice, este dezvoltarea infecțiilor persistente.

„Celulele persistente sunt celule latente care opresc sinteza proteinelor țintă și, ca urmare, pot rezista la concentrații mari de antimicrobiene, în pofida faptului că nu sunt rezistente genetic la acestea”. Astfel, persistenții sunt celule bacteriene cu activitate metabolică scăzută. Aceste celule prezintă toleranță ridicată la antibiotice și pot recoloniza după terapie.

Inclusiv ROS din celulele-gazdă pot modula formarea de celule persistente, un exemplu fiind activarea regulatorilor redox SoxRS la *E. coli*, soldată cu o creștere a expresiei pompei AcrAB-TolC multirezistentă (MDR), care, la rândul său, a scăzut concentrația de fluorochinolone și a indus toleranță la antimicrobiene.

Chiar și salicilații pot induce stres oxidativ care poate duce la persistentență, astfel, sugerându-se că ROS și impactul lor ulterior asupra reducerii potențialului membranei și metabolismului pot juca un rol evident în apariția celulelor persistente.

Spre deosebire de rezistența cauzată de modificări genetice, celulele persistente sunt genetic identice cu cele susceptibile la antibiotice.

Anumiți agenți patogeni bacterieni sunt capabili să evite sistemul imunitar și să persiste în interiorul gazdei umane. Consecințele infecțiilor bacteriene persistente includ creșterea morbidității și mortalității din cauza infecției propriu-zise, precum și un risc crescut de diseminare a bolii. Eradicarea infecțiilor persistente este dificilă, necesitând adesea un tratament prelungit sau repetat cu antibiotice. În timpul infecțiilor persistente, există o populație sau o subpopulație de bacterii care este refractară la antibioticele tradiționale, aflându-se, posibil, într-o stare de nereplicare sau replicare redusă și/sau metabolică alterată.

Printre agenții patogeni asociați cu infecții bacteriene persistente descriși în literatura de specialitate sunt *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori*, *Treponema pallidum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* etc.

Capacitățile antioxidante crescute pot proteja o bacterie de răspunsul imun al gazdei, precum și pot facilita supraviețuirea în timpul expunerii la antibiotice generatoare de ROS, permițând astfel instalarea unei infecții persistente. De exemplu, ca răspuns la oxidul nitric sintetizat de macrofag, *M. tuberculosis* exprimă mai multe enzime antioxidante pentru a contracara speciile reactive întâlnite în fagolizozom, inclusiv catalaza-peroxidaza KatG, superoxid dismutaze, o peroxidază NADH-dependentă, precum și tioli cu greutate moleculară mică, demonstrând capacitatea acestui microorganism de a-și asigura protecția antioxidantă crucială pentru supraviețuirea sa în interiorul gazdei.

S-a identificat faptul că stresul oxidativ declanșat de diferiți factori a influențat pozitiv expresia numeroaselor sisteme de pompe de eflux multidroge. El declanșează sistemele de pompe de eflux care contribuie la rezistența antimicrobiană, iar așa cum persistenții sunt mai puțin sensibili la ROS, în comparație cu omologii lor sensibili la antibiotice, un mecanism de apărare propus a fost expresia crescută a pompelor de eflux. Pompele de eflux, un mecanism de răspuns la stresul oxidativ, acționează, probabil, prin asigurarea efluxului proteinelor deteriorate de ROS.

Studiile au arătat că expunerea la anumite antimicrobiene și la stres oxidativ într-o subpopulație mică de *E. coli* a avut ca rezultat creșterea sintezei de indol prin suprareglarea transcripțională a genei *tnaA*, care este responsabilă de sinteza indolului. După ce a fost produs, indolul a fost secretat, inducând apoi modificări transcripționale în celulele învecinate, crescând numărul pompelor de eflux în acestea ca și mecanism de protecție împotriva stresului oxidativ, ducând la toleranță la antibiotice în populația mai mare de bacterii.

Diferite modele *in vitro* pentru infecții persistente au arătat (1) creșterea expresiei superoxid dismutazelor și a altor enzime antioxidante, iar ca rezultat bacteriile prezintă o toleranță mai mare la ROS; (2) exprimarea crescută a pompelor de eflux – o componentă a răspunsului la stres oxidativ; (3) apariția fenotipului variantei de colonie mică, care poate reprezenta o adaptare metabolică pentru a facilita supraviețuirea și creșterea intracelulară, caracterizată prin reprimarea lanțului transportator de electroni, ce are ca rezultat generarea a mai puține ROS în interiorul celulei, precum și o producere scăzută de ATP (adenozin trifosfat), cât și reducerea potențialului transmembranar, toate acestea putând afecta eficacitatea antibioticelor.

Modificarea expresiei genelor, remodelarea metabolismului, menținerea homeostaziei fierului, cu inducerea sintezei de siderofori și dezvoltarea persistenței sunt unele dintre mecanismele de adaptare la stres oxidativ propuse de cercetători care ar explica rezistența bacteriilor la unele antimicrobiene.

Aceste exemple indică faptul că ROS ar putea potența apariția rezistenței bacteriilor la antimicrobiene, însă sunt necesare studii și evaluări suplimentare pentru confirmarea indubitabilă a acestui fapt.

Expunerea bacteriilor la cantități reduse de prooxidanți poate declanșa mecanisme de adaptare la stresul oxidativ generat, interferând ulterior cu mecanismele de acțiune ale unor antimicrobiene din cauza instalării rezistenței.

Cercetările pentru identificarea unor antimicrobiene care ar acționa simultan asupra mai multor ținte sunt considerate extrem de importante în găsirea unei modalități de diminuare a fenomenului de rezistență la antibiotice, așa cum expunerea la ROS a celulelor bacteriene poate avea un efect dual, cu inducerea letalității sau cu dezvoltarea rezistenței acestora.

BIBLIOGRAFIE

1. Abdelkader K, Gerstmans H, Saafan H, Dishisha T, Briers Y. The Preclinical and Clinical Progress of Bacteriophages and Their Lytic Enzymes: The Parts Are Easier than the Whole. In: *Viruses*. 2019;24(1):11.
2. Adler C, Corbalan NS, Peralta DR, Pomares MF, de Cristóbal RE, Vincent PA. The alternative role of enterobactin as an oxidative stress protector allows *Escherichia coli* colony development. In: *PLoS One*. 2014; 9(1):e84734. <https://doi:10.1371/journal.pone.0084734>.
3. Aeschlmann. The role of Multidrug Efflux Pumps in the Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative bacteria. In: *Pharmacotherapy*. 2003; 22(7)916-924.
4. Agyepong N, Govinden U, Owusu-Ofori A, Essack SY. Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections in a teaching hospital in Ghana. In: *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7:37.
5. Albano GD, Gagliardo RP, Montalbano AM, Profita M. Overview of the Mechanisms of Oxidative Stress: Impact in Inflammation of the Airway Diseases. In: *Antioxidants*. 2022;11(11):2237. <https://doi.org/10.3390/antiox11112237>
6. Alekshun MN, Levy S. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. In: *Cell*. 2007;128:1037-1050.
7. Aminov R, Caplin J, Chanishvili N, Coffey A, Cooper I, De Vos D, et al. Application of bacteriophages. In: *Microbiol Aust*. 2018;38:63–66.
8. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. In: *Front Microbiol*. 2011;1:134. <https://doi:10.3389/fmicb.2010.00134>.
9. Ashiru-Oredope D, Casale E, Harvey E, Umoh E, Vasandani S, Reilly J, Hopkins S. Knowledge and Attitudes about Antibiotics and

- Antibiotic Resistance of 2404 UK Healthcare Workers. In: *Antibiotics*. 2022; 11(8): 1133. <https://doi:10.3390/antibiotics11081133>
10. Ashiru-Oredope D, Hopkins S, Vasandani S, Umoh E, Oloyede O, Nilsson A, et al. Healthcare workers' knowledge, attitudes, and behaviors with respect to antibiotics, antibiotic use and antibiotic resistance across 30 EU/EEA countries in 2019. In: *Euro Surveill*. 2021; 26(12):pii=1900633. <https://doi:10.2807/1560-7917.ES.2021.26.12.1900633>
 11. Ayukekbong JA, Ntemgwa M, Atabe AN. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: Causes and control strategies. In: *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017; 6: 47.
 12. Balan G, Sofronie O, Rusu IF, Tapu L, Burduniuc (Popa) O. Mecanisme de rezistență la antimicrobiene caracteristice bacililor gram-negativi de importanță clinică. In: *Akadosmos*. 2022; 4(67), 34-42. doi:10.52673/18570461.22.4-67.04.
 13. Baquero F, Blázquez J. Evolution of Antibiotic Resistance. In: *Trends in Ecology and Evolution*. 1997; 12(12): 482-487.
 14. Baquero F, Coque TM, Martínez JL, Aracil-Gisbert S, Lanza VF. Gene transmission in the One Health microbiosphere and the channels of antimicrobial resistance. In: *Front Microbiol*. 2019;10:1-14. doi:10.3389/fmicb.2019.02892.
 15. Bassetti M, Righi E, Astilean A, Corcione S, Petrolo A, Farina E.C., De Rosa F.G. Antimicrobial prophylaxis in minor and major surgery. In: *Minerva Anestesiol*. 2015; 81: 76–91.
 16. Belleghem J, Clement F, Merabishvili M, Lavigne R, Vaneechoutte M. Pro- and anti-inflammatory responses of peripheral blood mononuclear cells induced by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* phages. In: *Sci Rep*. 2017; 7: 8004. doi: 10.1038/s41598-017-08336-9.
 17. Benladghem Z, Seddiki SML, Mahdad Y.M. Identification of bacterial

- biofilms on desalination reverse osmosis membranes from the Mediterranean Sea. In: *Biofouling*. 2020; 36: 1065-1073. doi:10.1080/08927014.2020.1851366.
18. Berger-Bächli B. Resistance Mechanisms of Gram-Positive Bacteria. In: *International Journal of Medical Microbiology*. 2002; 292: 27-35.
 19. Berglund F, Ebmeyer S, Kristiansson E, et al. Evidence for wastewaters as environments where mobile antibiotic resistance genes emerge. In: *Commun Biol*. 2023; 6: 321
 20. Bollinger E, Zubrod JP, Lai FY, et al. Antibiotics as a silent driver of climate change? A case study investigating methane production in freshwater sediments. In: *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 228: 113025.
 21. Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM, Perl TM, Auwaerter PG, Bolon MK, et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. In: *Surg Infect*. 2013; 14: 73–156.
 22. Brink AJ, Messina AP, Feldman C, Richards GA, Becker PJ, Goff DA, et al. Netcare Antimicrobial Stewardship Study Alliance. Antimicrobial stewardship across 47 South African hospitals: An implementation study. In: *Lancet Infect Dis*. 2016; 16: 1017–1025.
 23. Brink AJ, Messina AP, Feldman C, Richards GA, van den Bergh D; Netcare Antimicrobial Stewardship Study Alliance. From guidelines to practice: A pharmacist-driven prospective audit and feedback improvement model for peri-operative antibiotic prophylaxis in 34 South African hospitals. In: *J.Antimicrob Chemother*. 2017; 72: 1227–1234.
 24. Bruyndonckx R, Adriaenssens N, Versporten A, Hens N, Monnet D.L., Molenberghs G, Goossens H, Weist K, Coenen S. Consumption of antibiotics in the community, European Union/European Economic Area, 1997-2017. In: *J.Antimicrob Chemother*. 2021; 76:7-13. doi:10.1093/jac/dkab172.

25. Burduniuc O, Bălan G. Conștientizarea populației privind consumul de antimicrobiene în Republica Moldova. In: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. 2015; 3(60):160-163.
26. Burnham JP. Climate change and antibiotic resistance: a deadly combination. In: *Ther Adv Infect Dis*. 2021; 8:1-7.
27. Cavicchioli R, Ripple WJ, Timmis KN, et al. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. In: *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17(9): 569-586.
28. Cernea M, Cristina RT, Stefanut LC, Carvalho LM, Taulescu MA, Cozma V. Screening for anthelmintic resistance in equid strongyles (Nematoda) in Romania. In: *Fol Parasitol (Praha)*. doi:10.14411/fp.2015.023
29. Chan S, Pullerits K, Keucken A, Persson K.M., Paul C.J., Radström P. Bacterial release from pipe biofilm in a full-scale drinking water distribution system. In: *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2019; 5: 3-10.
30. Chang R, Wallin M, Lin Y, et al. Phage therapy for respiratory infections. In: *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 133: 76–86. doi:10.1016/j.addr.2018.08.001.
31. Charani E, Tarrant C, Moorthy K, Sevdalis N, Brennan L, Holmes AH. Understanding antibiotic decision making in surgery - a qualitative analysis. In: *Clin Microbiol Infect*. 2017; 23: 752–760.
32. Cheaito L, Azizi S, Saleh N, Salameh P. Assessment of self-medication in the population buying antibiotics in pharmacies: A pilot study from Beirut and its suburbs. In: *Int J Public Health*. 2014; 59: 319–327.
33. Chen J, Li W, Tan Q, Sheng D, Li Y, Chen S, Zhou W. Effect of disinfectant exposure and starvation treatment on the detachment of simulated drinking water biofilms. In: *Sci Total Environ*. 2022; 807: 150896. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.150896.

34. Chen J, Li W, Zhang J, Qi W, Li Y, Chen S, Zhou W. Prevalence of antibiotic resistance genes in drinking water and biofilms: The correlation with the microbial community and opportunistic pathogens. In: *Chemosphere*. 2020; 259: 127483. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127483.
35. Ciobanu E, Croitoru C, Balan G, Bernic V, Burduniuc O, Ferdohleb A. “Phage treatment and wetland technology as intervention strategy to prevent dissemination of antibiotic resistance in surface waters” - a project launch in Low-Middle Income countries of Eastern Europe. *One Health & Risk Management*. In: Abstract material National Scientific Conference with International participation „Water and health: achievements and challenges,” March 2022. Chisinau, 2022; 3 (issue 2-S): 28.
36. Ciobanu E, Croitoru C. Ferdohleb A. Fenomenul de rezistență la antibiotice în țările cu venituri mici și mijlocii: prin prisma instrumentului „Cunoștințe, Atitudini și Practici ale medicilor”. În: Conferința „Yesterday’s cultural heritage – contribution to the development of tomorrow’s sustainable society” edition-7, Chișinău, Moldova, 9-10 februarie 2023. Chișinău, 2023:190-191.
37. Collineau L, Belloc C, Stärk KD, Hémonic A, Postma M, Dewulf J, Chauvin C. Guidance on the selection of appropriate indicators for quantification of antimicrobial usage in humans and animals. In: *Zoonoses Public Health*. 2017 May;64(3):165-184. doi: 10.1111/zph.12298.
38. Cox JA, Vlieghe E, Mendelson M, Wertheim H, Ndegwa L, Villegas MV, Gould I, Levy Hara G. Antibiotic stewardship in low- and middle-income countries: The same but different? In: *Clin Microbiol Infect*. 2017; 23: 812-818.
39. Croitoru C, Bălan G, Burduniuc O. Gram-negative microorganisms, infectious diseases, and the relationship to climate change. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 30-30.

40. Croitoru C, Ciobanu E, Ferdohleb A. Validarea chestionarului: cunoștințe, atitudini și practici privind fenomenul de antibiorezistență la medici. In: *Arta Medica*. 2022; 65(3): 4-15.
41. Croitoru C, Ciobanu E. Ghid de bune practici: Alimentație rațională, siguranța alimentelor și schimbarea comportamentului alimentar. Chișinău, 2019; 160 p.
42. Curteanu M, Ciobanu E. Bottled drinking water consumption in LMICs. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 32-32.
43. Curteanu M., Ciobanu E. Bottled drinking water consumption in LMICs. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 32.
44. da Cruz Nizer WS, Inkovskiy V, Versey Z, Strempele N, Cassol E, Overhage J. Oxidative Stress Response in *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pathogens*. 2021;10(9):1187. doi:10.3390/pathogens10091187.
45. Dawan J, Ahn J. Bacterial Stress Responses as Potential Targets in Overcoming Antibiotic Resistance. In: *Microorganisms*. 2022; 10(7): 1385. doi:10.3390/microorganisms10071385.
46. De Kraker ME, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? In: *PLoS Med*. 2016;13:e1002184.
47. Dedrick R, Guerrero-Bustamante C, Garlena R, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. In: *Nat Med*. 2019; 25: 730–733. doi:10.1038/s41591-019-0437-z.
48. Destiani R, Templeton MR. Chlorination and ultraviolet disinfection of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes in drinking water. In: *AIMS Environ Sci*. 2019; 6: 222-241. doi:10.3934/environsci.2019.3.222.
49. Doma AO, Chirila AB, Dumitrescu E, Muselin F, Cristina RT. The importance of antibiotic resistance evolution in Western Romania's

- swine units. In: *J Biotechnol.* 2015; 208(Suppl.): S102. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.06.320.
50. Duarte AC, Rodrigues S, Afonso A, Nogueira A, Coutinho P. Antibiotic Resistance in the Drinking Water: Old and New Strategies to Remove Antibiotics, Resistant Bacteria, and Resistance Genes. In: *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(4):393. doi:10.3390/ph15040393.
 51. Dufour N, Delattre R, Ricard J, Debarbieux L. The lysis of pathogenic *Escherichia coli* by bacteriophages releases less endotoxin than beta-lactams. In: *Clin Infect Dis.* 2017; 64: 1582–1588. doi:10.1093/cid/cix184.
 52. Dunachie Sj, Day Np, Dolecek C. The challenges of estimating the human global burden of disease of antimicrobial resistant bacteria. In: *Curr.Opin.Microbiol.* 2020; 57: 95-101.
 53. ECDC. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (Ears-Net). Disponibil la: <https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
 54. Efficacy of UVC-LED in water disinfection on *Bacillus* species with consideration of antibiotic resistance issue. In: *J Hazard Mater.* 2020; 386: 121968. doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121968.
 55. El Khoury G, Ramia E, Salameh P. Misconceptions and malpractices toward antibiotic use in childhood upper respiratory tract infections among a cohort of Lebanese parents. In: *Eval Health Prof.* 2018; 41: 493–511.
 56. Essack SY, Connolly C, Sturm AW. Antibiotic use and resistance in public-sector hospitals in KwaZulu-Natal. In: *S Afr Med J.* 2005; 95: 865–870.
 57. Essack SY, Desta AT, Abotsi RE, Agoba EE. Antimicrobial resistance in the WHO African region: Current status and roadmap for action. In: *J Public Health.* 2017; 39: 8–13.

58. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Consumption in the EU/EEA-Annual Epidemiological Report 2019. European Centre for Disease Prevention and Control; Stockholm, Sweden: 2020.
59. Farah R, Lahoud N, Salameh P, Saleh N. Antibiotic dispensation by Lebanese pharmacists: A comparison of higher and lower socio-economic levels. In: *J Infect Public Health*. 2015;8:37–46.
60. Felis E, Kalka J, Sochacki A, Kowalska K, Bajkacz S, Harnisz M, Korzeniewska E. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment-occurrence and environmental implications. In: *Eur J Pharmacol*. 2020; 866: 172813. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172813.
61. Ferdohleb A, Balan G, Ciobanu E, Croitoru C, Tapu L, Spinei L. Cunoștințe, atitudini și practici ale populației cu privire la rezistența la antimicrobiene. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova: Moldovan Journal of Health Sciences: Conferința științifică anuală” Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. 2023: 107-107.
62. Ferdohleb A, Croitoru C, Ciobanu E, Spinei L. Health-related quality of life and the impact of antimicrobial resistance. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 31-31.
63. Ferdohleb A, Croitoru C, Ciobanu E, Tapu L, Spinei L. Questionnaire standardization knowledge, attitudes, and practices regarding the antimicrobial resistance of medical workers. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2022;3(29):67.
64. Ferdohleb A, Iaconi OS, Galben L. The public health problem and resistant bacteria in low-and middle-income countries. In: *One Health & Risk Management*. 2023, Special Edition: November:18-18.
65. Ferdohleb A. Calitatea vieții populației din țările cu venituri mici și medii estimate cu instrumente standardizate. In: *Sănătatea, medicina*

și bioetica în societatea contemporană: studii inter și pluridisciplinare: Materialele Conferinței Științifice Internaționale, ediția a VI-a, 6-7 octombrie 2023. Chișinău, 2023; 278-284.

66. Fleming. Reprinted from the British Journal of Experimental Pathology 10:226–236, 1929. In: Rev Infect Dis. 2(1):129–39. doi:10.1093/clinids/2.1.129.
67. Florey HW. Use of Micro-organisms for therapeutic purposes. In: Br Med J. 2(4427):635–642. doi:10.1136/bmj.2.4427.635.
68. Fondi M, Karkman A, Tamminen M V., et al. Every gene is everywhere but the environment selects: Global geolocalization of gene sharing in environmental samples through network analysis. In: Genome Biol Evol. 2016; 8(5): 1388-1400. doi:10.1093/gbe/evw077.
69. Furfaro L, Payne M, Chang B. Bacteriophage therapy: Clinical trials and regulatory hurdles. In: Front Cell Infect Microbiol. 2018; 8: 376. doi:10.3389/fcimb.2018.00376.
70. Gharbi M, Moore LS, Castro-Sánchez E, Spanoudaki E, Grady C, Holmes AH, et al. A needs assessment study for optimizing prescribing practice in secondary care junior doctors: The Antibiotic Prescribing Education among Doctors (APED). In: BMC Infect Dis. 2016; 16(1): 456. 10.1186/s12879-016-1800-z.
71. Gootz TD. 1990. Discovery and Development of New Antimicrobial Agents. In: Clin Microbiol Rev. 3(1):13-31.
72. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. In: Virulence. 2013; 4(4): 273-283.
73. Gudipati S, Zervos M, Herc E. Can the One Health approach save us from the emergence and reemergence of infectious pathogens in the era of climate change: Implications for antimicrobial resistance? In: Antibiotics. 2020; 9(9): 1-7.

74. Guo X, Yan Z, Zhang Y, Xu W, Kong D, Shan Z, Wang N. Behavior of antibiotic resistance genes under extremely high-level antibiotic selection pressures in pharmaceutical wastewater treatment plants. In: *Sci Total Environ.* 2018;612:119-128.
75. Hamilton RM, Merrill KC, Luthy KE, Nuttall C. Knowledge, attitudes, and perceptions of nurse practitioners about antibiotic stewardship. In: *J Am Assoc Nurse Pr.* 2020; 33: 909-915.
76. Hemdan BA, El-Taweel GE, Goswami P, Pant D, Sevda S. The role of biofilm in the development and dissemination of ubiquitous pathogens in drinking water distribution systems: An overview of surveillance, outbreaks, and prevention. In: *World J Microbiol Biotechnol.* 2021;37:36.
77. Holloway K, Mathai E, Gray A. Surveillance of community antimicrobial use in resource-constrained settings—Experience from five pilot projects. In: *Trop Med Int Health.* 2011; 16: 152–161.
78. Hotărârea de Guvern nr. 697 din 20 septembrie 2023 „Cu privire la aprobarea Programului național pentru supravegherea și combaterea rezistenței la antimicrobiene pe anii 2023-2027”, publicat în Monitorul Oficial Nr. 395-397 din 20.10.2023, 947
79. Hu Y, Zhang T, Jiang L, Luo Y, Yao S, Zhang D, Lin K, Cui C. Occurrence, and reduction of antibiotic resistance genes in conventional and advanced drinking water treatment processes. In: *Sci Total Environ.* 2019; 669: 777-784. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.143.
80. Huang L, Ahmed S, Gu Y, et al. The Effects of Natural Products and Environmental Conditions on Antimicrobial Resistance. In: *Molecules.* 2021; 26(14): 4277.
81. Hutchinson JM, Patrick DM, Marra F, Ng H, Bowie WR, Heule L, Muscat M, Monnet DL. Measurement of antibiotic consumption: A practical guide to the use of the Anatomical Therapeutic Chemical

classification and Defined Daily Dose system methodology in Canada. In: *Can J Infect Dis.* 2004;15(1): 29-35.

82. IHME. Findings from the Global Burden of Disease Study 2017. In: Seattle, WA: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME); 2018: 25.
83. Iskandar K, Molinier L, Hallit S, et al. Drivers of antibiotic resistance transmission in low- and middle-income countries from a „one health” perspective-a review. In: *Antibiotics.* 2020; 9(7): 1-23.
84. Iskandar K, Sartelli M, Tabbal, M, Ansaloni L, Baiocchi GL, Catena F, et al. Highlighting the gaps in quantifying the economic burden of surgical site infections associated with antimicrobial-resistant bacteria. In: *World J Emerg Surg.* 2019, 14, 50.
85. Iunac D, Galben L, Ferdohleb A, Bălan G. Antimicrobial resistance phenotypes of *Staphylococcus aureus* strains in the Republic of Moldova. In: *Studii și Cercetări de Antropologie.* 2023; 8: 48-48.
86. Iunac D, Galben L, Ferdohleb A, Balan G. Mecanisme de rezistență la antimicrobiene a tulpinilor de *Staphylococcus aureus*: sinteză narativă. In: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 2023; 95(2): 38-43.
87. Jault P, Leclerc T, Jennes S, et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): A randomized, controlled, double-blind phase 1/2 trial. In: *Lancet Infect Dis.* 2019; 19: 35-45.
88. Jennes S, Merabishvili M, Soentjens P, et al. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in a patient with acute kidney injury-A case report. In: *Crit Care.* 2017; 21: 129.
89. Jia S, Bian K, Shi P, Ye L, Liu C.H. Metagenomic profiling of antibiotic resistance genes and their associations with bacterial community

- during multiple disinfection regimes in a full-scale drinking water treatment plant. In: *Water Res.* 2020; 176: 115721.
90. Jun S, Jang I, Yoon S, Jang K, Yu K-S, et al. Pharmacokinetics and tolerance of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 after a single intravenous administration among healthy volunteers. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 24: 61.
 91. Kaae S, Ghazaryan L, Pagava K, Korinteli I, Makalkina L, Zhetimkarinova G, Ikhambayeva A, Tentiuc E, Ratchina S, Zakharenkova P, Yusufi S, Maqsudova N, Druedahl L, Sporrang SK, Cantarero LA, Nørgaard LS. The antibiotic knowledge, attitudes and behaviors of patients, doctors, and pharmacists in the WHO Eastern European region - a qualitative, comparative analysis of the culture of antibiotic use in Armenia, Georgia, Kazakhstan, Moldova, Russia, and Tajikistan. In: *Research in Social and Administrative Pharmacy.* 2020; 16(2): 238-248.
 92. Kahlmeter G. 2012. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. In: *Clin Microbiol Infect.* E-pub.: 21 October 2011, doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x.
 93. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, Goossens H, Laxminarayan R. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. In: *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115:E3463–E3470.
 94. Kolář M, Urbánek K, and Látal T. 2001. Antibiotic Selective Pressure and Development of Bacterial Resistance. In: *Int J Antimicrob Agents.* 17:357-363.
 95. Kong AS, Maran S, Yap PS, et al. Anti- and Pro-Oxidant Properties of Essential Oils against Antimicrobial Resistance. In: *Antioxidants (Basel).* 2022; 11(9): 1819.
 96. Kovalakova P, Cizmas L, McDonald T.J., Marsalek B, Feng M,

- Sharma V.K. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. In: *Chemosphere*. 2020; 251: 126351.
97. Kumar A and Schweizer HP. 2005. Bacterial Resistance to Antibiotics: Modified Target Sites. In: *Adv Drug Deliv Rev*. 57:1486-1513.
98. Labi AK, Obeng-Nkrumah N, Bjerrum S, et al. Physicians' knowledge, attitudes, and perceptions concerning antibiotic resistance: a survey in a Ghanaian tertiary care hospital. In: *BMC Health Serv Res*. 2018; 18, 126.
99. Lambert PA. 2005. Bacterial resistance to Antibiotics: Modified Target Sites. In: *Adv Drug Deliv Rev*. 57: 1471-1485.
100. Lazăr C, Tagadiuc O, Ferdohleb A. Rolul strategiilor alternative de combatere a rezistenței la antimicrobiene. In: *One Health & Risk Management*. 2023, nr. 1(S): 56-56.
101. Lazăr C, Tagadiuc O. The phage therapy against antibiotic-resistant bacteria. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 54-54.
102. Le TH, Ng C, Tran NH, Chen H, Gin KYH. Removal of antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in municipal wastewater by membrane bioreactor systems. In: *Water Res*. 2018;145:498-508. doi:10.1016/j.watres.2018.08.060.
103. Leonard AFC, Zhang L, Balfour AJ, et al. Exposure to and colonisation by antibiotic-resistant *E. coli* in UK coastal water users: Environmental surveillance, exposure assessment, and epidemiological study (Beach Bum Survey). In: *Environ Int*. 2018;114:326-333.
104. Li H, Zhou X, Huang Y, Liao B, Cheng L, Ren B. Reactive Oxygen Species in Pathogen Clearance: The Killing Mechanisms, the Adaption Response, and the Side Effects. In: *Front Microbiol*. 2021; 11: 622534.
105. Liang C, Wei D, Zhang S, Ren Q, Shi J, Liu L. Removal of antibiotic resistance genes from swine wastewater by membrane filtration treatment. In: *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 210: 111885.

- 106.Liao J, Chen Y, Huang H. Effects of CO₂ on the transformation of antibiotic resistance genes via increasing cell membrane channels. In: *Environ Pollut.* 2019; 254: 113045.
- 107.Liguori K, Keenum I, Davis BC, et al. Antimicrobial resistance monitoring of water environments: A framework for standardized methods and quality control. In: *Environ Sci Technol.* 2022; 56(13): 9149-9160.
- 108.Love M, Bhandari D, Dobson R, Billington C. Potential for Bacteriophage Endolysins to Supplement or Replace Antibiotics in Food Production and Clinical Care. In: *Antibiotics.* 2018;7:17.
- 109.Lu J, Tian Z, Yu J, Yang M, Zhang Y. Distribution and abundance of antibiotic resistance genes in sand settling reservoirs and drinking water treatment plants across the Yellow River, China. In: *Water.* 2018; 10: 246. doi:10.3390/w10030246.
- 110.Lu J, Zhang Y, Wu J, Wang J, Cai Y. Fate of antibiotic resistance genes in reclaimed water reuse system with integrated membrane process. In: *J.Hazard Mater.* 2020;382:121025. doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121025.
- 111.Macari D, Scutari C, Todiraș M, Ferdohleb A. Metodologia determinării formulei de calcul a consumului de antibiotice în spitale. In: *Print Caro,* 2023, 48 p.
- 112.Mackull'ak T, Cverenkárová K, Stanová A, Fehér M, Tamás M, Škulcová A, et al. Hospital Wastewater-Source of Specific Micropollutants. In: *Antibiotics.* 2021;10:1070. doi:10.3390/antibiotics10091070.
- 113.Makoka MH, Miller WC, Hoffman IF, Cholera R, Gilligan PH, Kamwendo D, et al. Bacterial infections in Lilongwe, Malawi: Aetiology and antibiotic resistance. In: *BMC Infect Dis.* 2012;12-67.
- 114.Marathe NP, Berglund F, Razavi M, Pal C, Dröge J, Samant S, et al. Sewage effluent from an Indian hospital harbors novel carbapenemases

- and integron-borne antibiotic resistance genes. In: *Microbiome*. 2019;7:97. doi:10.1186/s40168-2019-0710-x.
115. McCullough AR, et al. Not in my backyard: a systematic review of clinicians' knowledge and beliefs about antibiotic resistance. In: *J. Antimicrob Chemother*. 2015;70(9):2465-2473. doi:10.1093/jac/dkv164.
116. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. In: *Microbiol Spectr*. 2018, 6, 10.
117. Milaković M, Vestergaard G, González-Plaza J.J, Petrić I, Kosić-Vukšić J, Senta I, Kublik S, Schloter M, Udiković-Kolić N. Effects of industrial effluents containing moderate levels of antibiotic mixtures on the abundance of antibiotic resistance genes and bacterial community composition in exposed creek sediments. In: *Sci Total Environ*. 2020; 706: 136001. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.136001.
118. Mourenza Á, Gil JA, Mateos LM, Letek M. Oxidative Stress-Generating Antimicrobials, a Novel Strategy to Overcome Antibacterial Resistance. In: *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(5): 361. doi:10.3390/antiox9050361.
119. Murray C, Ikuta K, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. In: *The Lancet*, 2022, 629-655, 399(10325). doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
120. Nordmann P, Poirel L. Emergence of Plasmid-Mediated Resistance to Quinolones in Enterobacteriaceae. In: *J. Antimicrob Chemother*. 2005; 56: 463-469.
121. Obimakinde S, Fatoki O, Opeolu B, Olatunji O. Veterinary pharmaceuticals in aqueous systems and associated effects: An update. In: *Environ Sci Pollut Res*. 2017; 24: 3274-3297. doi:10.1007/s11356-016-7757-z.
122. Oechslin F. Resistance development to bacteriophages occurring

- during bacteriophage therapy. In: *Viruses*. 2018; 10: 351. doi:10.3390/v10070351.
123. Ohene-Adjei K, Kenu E, Bandoh DA, et al. Epidemiological link of a major cholera outbreak in Greater Accra region of Ghana, 2014. *BMC Public Health*. 2017;17(1):1-10. doi:10.1186/s12889-017-4803-9.
124. Pabary R, Singh C, Morales S, et al. Anti-pseudomonal bacteriophage reduces infective burden and inflammatory response in the murine lung. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60: 744–751. doi:10.1128/AAC.01426-15.
125. Pallecchi L, Bartoloni A, Paradisi F, Rossolini GM. Antibiotic resistance in the absence of antimicrobial use: mechanisms and implications. In: *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008; 6: 725–732.
126. Pepi M, Focardi S. Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the Mediterranean area. In: *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(11): 5723-5754. doi:10.3390/ijerph18115723.
127. Peralta DR, Adler C, Corbalán NS, Paz García EC, Pomares MF, Vincent PA. Enterobactin as Part of the Oxidative Stress Response Repertoire. In: *PLoS One*. 2016; 11(6): e0157799. doi:10.1371/journal.pone.0157799.
128. Petrovich ML, Zilberman A, Kaplan A, Eliraz G.R, Wang Y, Langenfeld K, et al. Microbial and Viral Communities and Their Antibiotic Resistance Genes Throughout a Hospital Wastewater Treatment System. In: *Front Microbiol*. 2020; 11: 1-13. doi:10.3389/fmicb.2020.00153.
129. Pezzani MD, Tornimbene B, Pessoa-Silva C, De Kraker M, Rizzardo S, Salerno ND, et al. Methodological quality of studies evaluating the burden of drug-resistant infections in humans due to the WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System target bacteria. In: *Clin Microbiol Infect*. 2021; 27: 687-96. doi: 10.1016/j.cmi.2021.01.004.

130. Philipsborn R, Ahmed SM, Brosi BJ, Levy K. Climatic drivers of diarrheagenic *Escherichia coli* incidence: A systematic review and meta-analysis. In: *J Infect Dis.* 2016; 214(1): 6-15. doi:10.1093/infdis/jiw081.
131. Piddock, L. J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. In: *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19: 382–402.
132. Pîsla M, Bahnarel I, Ferdohleb A. Experiența și bunele practici ale țărilor Uniunii Europene în domeniul fortificării serviciilor de sănătate ocupațională. In: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 2014; 54(3): 24-29
133. Rachel M Zetts, Andrea M Garcia, Jason N Doctor, Jeffrey S Gerber, Jeffrey A Linder, David Y Hyun. Primary Care Physicians' Attitudes and Perceptions Towards Antibiotic Resistance and Antibiotic Stewardship: A National Survey. In: *Open Forum Infectious Diseases.* 2020; Volume 7, Issue 7, July 2020, ofaa244, doi:10.1093/ofid/ofaa244.
134. Ramsamy Y, Hardcastle TC, Muckart DJJ. Surviving Sepsis in the Intensive Care Unit: The Challenge of Antimicrobial Resistance and the Trauma Patient. In: *World J.Surg.* 2017; 41: 1165–1169.
135. Ramsamy Y, Muckart DJ, Bruce JL, Hardcastle TC, Han KS, Mlisana KP. Empirical antimicrobial therapy for probable vs. directed therapy for possible ventilator-associated pneumonia in critically injured patients. In: *S.Afr.Med.J.* 2016; 106: 196-200.
136. Ramsamy Y, Muckart DJ, Han KS. Microbiological surveillance and antimicrobial stewardship minimize the need for ultrabroad-spectrum combination therapy for treatment of nosocomial infections in a trauma intensive care unit: An audit of an evidence-based empiric antimicrobial policy. In: *S.Afr.Med J.* 2013;103:371–376.

137. Ramsamy Y, Muckart DJJ, Mlisana KP. Antimicrobial stewardship in South Africa: A fruitful endeavor. In: *Lancet Infect Dis.* 2016;16:982–983.
138. Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Galano A, Zhou XJ, Xu B. Mitochondria: Central Organelles for Melatonin's Antioxidant and Anti-Aging Actions. In: *Molecules.* 2018;23(2):509. doi:10.3390/molecules23020509.
139. Revie N, Iyer K, Robbins N, Cowen L. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms, and impact. In: *Curr Opin Microbiol.* 2018;45:70-76.
140. Rezoluția Parlamentului European din 1 iunie 2023 referitoare la acțiunea UE de combatere a rezistenței la antimicrobiene (2023/2703(RSP)).
141. Rhee KY, Gardiner DF. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal activity in the treatment of gram-positive bacterial infections. In: *Clin Infect Dis.* 2004; 39(5): 755–6. doi:10.1086/422881.
142. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. In: *J Infect Dis.* 2008;197:1079–1081.
143. Richards GA, Brink AJ, Messina AP, Feldman C, Swart K, van den Bergh D. Netcare Antimicrobial Stewardship and Infection Prevention Study Alliance. Stepwise introduction of the 'Best Care Always' central-line-associated bloodstream infection prevention bundle in a network of South African hospitals. In: *J Hosp Infect.* 2017; 97: 86–92.
144. Rickard J, Beilman G, Forrester J, Sawyer R, Stephen A, Weiser TG, Valenzuela J. Surgical Infections in Low- and Middle-Income Countries: A Global Assessment of the Burden and Management Needs. In: *Surg Infect.* 2019.

145. Roach D, Leung C, Henry M, Morello E, et al. Synergy between the host immune system and bacteriophage is essential for successful phage therapy against an acute respiratory pathogen. In: *Cell Host Microbe*. 2017; 22: 38–47.e4. doi: 10.1016/j.chom.2017.06.018.
146. Rodríguez-Rojas A, Kim JJ, Johnston PR, et al. Non-lethal exposure to H₂O₂ boosts bacterial survival and evolvability against oxidative stress. In: *PLoS Genet*. 2020;16(3):e1008649. doi:10.1371/journal.pgen.1008649.
147. Romeo C, Doma O, Alexandru D, Dumitrescu E, Muselin F, Chirilă B. Despre evoluția și implicațiile fenomenului rezistenței la medicamentele antiinfecțioase și antiparazitare de uz veterinar și evoluția acestui fenomen în România. In: *Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug*. 2018; 12(1): 4-44.
148. Rouveix B. Clinical implications of multiple drug resistance efflux pumps of pathogenic bacteria. In: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 59: 1208-1209.
149. Sartelli M, Coccolini F, Abu-Zidan FM, Ansaloni L, Bartoli S, Biffi W, Borghi F, Chouillard E, Cui Y, De Oliveira Nascimento R, et al. Hey surgeons! It is time to lead and be a champion in preventing and managing surgical infections! In: *World J Emerg Surg*. 2020; 15: 28.
150. Sartelli M, Kluger Y, Ansaloni L, Carlet J, Brink A, Hardcastle TC, et al. A Global Declaration on Appropriate Use of Antimicrobial Agents across the Surgical Pathway. In: *Surg Infect*. 2017; 18: 846-853.
151. Sartelli M, Kluger Y, Ansaloni L, Coccolini F, Baiocchi G.L, Hardcastle T.C, et al. Knowledge, awareness, and attitude towards infection prevention and management among surgeons: Identifying the surgeon champion. In: *World J Emerg Surg*. 2018; 13: 37.
152. Sartelli M, Weber D.G, Ruppé E, Bassetti M, Wright B.J, Ansaloni L, Catena F, et al. Antimicrobials: A global alliance for optimizing

- their rational use in intra-abdominal infections (AGORA). In: *World J Emerg Surg.* 2016; 11: 33.
153. Schellack N, Benjamin D, Brink A, Duse A, Faure K, Goff D, et al. A situational analysis of current antimicrobial governance, regulation, and utilization in South Africa. In: *Int J Infect Dis.* 2017; 64: 100-106.
154. Septimus EJ, Owens RC Jr. Need and potential of antimicrobial stewardship in community hospitals. In: *Clin Infect Dis.* 2011; 53: S8-S14.
155. Shannon MA, Bohn P.W, Elimelech M, Georgiadis J.G, Mariñas B.J, Mayes A.M. Science and technology for water purification in the coming decades. In: *Nanosci. Technol. A. Collect. Rev. Nat. J.* 2009; 452: 337-346.
156. Shastri MD, Shukha SD, Chong WC, et al. Role of Oxidative Stress in the Pathology and Management of Human Tuberculosis. In: *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: 7695364. doi:10.1155/2018/7695364.
157. Shen X, Jin G, Zhao Y, Shao X. Prevalence and distribution analysis of antibiotic resistance genes in a large-scale aquaculture environment. In: *Sci Total Environ.* 2020; 711: 134626. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134626.
158. Silley P. 2012. Susceptibility testing methods, resistance and breakpoints: what do these terms really mean? In: *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 31(1): 33-41.
159. Slipko K, Reif D, Wögerbauer M, Hufnagl P, Krampe J, Kreuzinger N. Removal of extracellular free DNA and antibiotic resistance genes from water and wastewater by membranes ranging from microfiltration to reverse osmosis. In: *Water Res.* 2019; 164: 114916.
160. Spinei L, Ciobanu E, Balan G, Croitoru C, Tapu L, Ferdohleb A. Rolul strategiilor alternative de combatere a rezistenței la antimicrobiene. In: *One Health & Risk Management.* 2023, nr. 1(S): 43-43.

161. Spinei L, Ciobanu E, Balan G, Croitoru C, Tapu L, Ferdohleb A. The phenomenon of antibiotic resistance and people's knowledge. In: *One Health and Risk Management*. 2023; 2: 43.
162. Steinberg JP, Braun BI, Hellinger WC, Kusek L, Bozikis MR, Bush AJ, Dellinger EP, Burke JP, Simmons B, Kritchevsky SB, et al. Timing of antimicrobial prophylaxis and the risk of surgical site infections: Results from the trial to reduce antimicrobial prophylaxis errors. In: *Ann Surg*. 2009; 250: 10-16.
163. Su HC, Liu YS, Pan CG, Chen J, He LY, Ying GG. Persistence of antibiotic resistance genes and bacterial community changes in drinking water treatment system: From drinking water source to tap water. In: *Sci Total Environ*. 2018; 616: 453-461. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.10.318.
164. Sykes R. Penicillin: from discovery to product. In: *Bull World Health Organ*. 2001;79(8):778-9.
165. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. In: *EFSAJ*. 2018; 16(2): 5182.
166. Tong J, Lu XT, Zhang JY, Sui Q, Wang R, Chen M, Wei Y. Occurrence of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in enterococci and genomic DNA during anaerobic digestion of pharmaceutical waste sludge with different pretreatments. In: *Bioresour Technol*. 2017; 235: 316-324.
167. Tran NH, Reinhard M, Gin KYH. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions - a review. In: *Water Res*. 2018; 133: 182-207.
168. Turnidge J, Peterson DL. Setting and Revising Antibacterial Susceptibility Breakpoints. In: *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20(3): 391-408.

169. Vaishampayan A, Grohmann E. Antimicrobials Functioning through ROS-Mediated Mechanisms: Current Insights. In: *Microorganisms*. 2021; 10(1): 61.
170. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals. In: *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112: 5649-5654.
171. Van Dijck C, Vlieghe E, Cox JA. Antibiotic stewardship interventions in hospitals in low-and middle-income countries: A systematic review. In: *Bull World Health Organ*. 2018; 96: 266–280.
172. Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L, Abilova V, Pyshnik G, Spasojevic T, Mpharm F, Korinteli I, Raka L, Kabaralieva B, Cizmovic L, Carp A, Radonjic V, Maqsudova N, Celik HD, Payerl-Pal M, Pedersen HB, Sautenkova N, Herman Goossens H. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. In: *Lancet Infect Dis*. 2014; 14(5): 381-387.
173. Vilcova A, Dumitraș C, Ferdohleb A, Ciobanu E. The impact of burnout syndrome on the quality of surgical services – in LMICs. In: *Studii și Cercetări de Antropologie*. 2023; 8: 102-102.
174. Walsh C. Molecular Mechanisms that Confer Antibacterial Drug Resistance. In: *Nature*. 2000; 406: 775-781.
175. Wan K, Guo L, Ye C, Zhu J, Zhang M, Yu X. Accumulation of antibiotic resistance genes in full-scale drinking water biological activated carbon (BAC) filters during backwash cycles. In: *Water Res*. 2021; 190: 116744. doi:10.1016/j.watres.2020.116744
176. Wang T, El Meouche I, Dunlop MJ. Bacterial persistence induced by salicylate via reactive oxygen species. In: *Sci Rep*. 2017; 7: 43839.
177. Wang Y, He Y, Li X, Nagarajan D, Chang J-S. Enhanced biodegradation of chlortetracycline via a microalgae-bacteria consortium. In: *Bioresour Technol*. 2022; 343: 126149.

178. Waters E, Neill D, Kaman B, et al. Phage therapy is highly effective against chronic lung infections with *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Thorax*. 2017; 72: 666–667.
179. Watts JEM, Schreier HJ, Lanska L, Hale MS. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: Sources, sinks and solutions. In: *Mar Drugs*. 2017; 15:158.
180. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Norwegian Institute of Public Health. Guidelines for ATC classification and DDD assignment, 2023. Oslo, Norway. 2023; 250 p. Disponibil la: https://www.whocc.no/atc_ddd_index_and_guidelines/guidelines/
181. WHO. AMR Surveillance and Quality Assessment Collaborating Centres Network. Geneva: World Health Organization. Disponibil la: <https://www.who.int/initiatives/glass/network>
182. WHO. Antimicrobial resistance. Disponibil la: <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>
183. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. Disponibil la: <https://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
184. WHO. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR). Disponibil la: [https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-\(caesar\)](https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-(caesar)).
185. WHO. Data Global Antimicrobial Resistance Surveillance System: Manual for Early Implementation. Geneva: WHO; 2015. Disponibil la: <http://www.who.int/antimicrobialresistance/publications/surveillancesystem-manual/en/>
186. WHO. Diagnostic stewardship: a guide to implementation in antimicrobial resistance surveillance sites. Geneva: 2016. Disponibil la: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/251553>

187. WHO. GLASS method for estimating attributable mortality of antimicrobial resistant bloodstream infections. Geneva: 2020.
188. WHO. GLASS Technical meeting on the early implementation phase, 22-23 October 2015. 2015 Disponibil la: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/events/GLASSmeeting/en/>
189. WHO. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Disponibil la: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/en/>
190. WHO. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2021. Disponibil la: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027336>
191. WHO. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2022. Disponibil la: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>
192. WHO. Global Database for the tripartite antimicrobial resistance country self-assessment survey. Published online 2022. Disponibil la: <https://amrcountryprogress.org/#/vis>
193. WHO. Global Leaders Group on Antimicrobial Resistance. 2020. Disponibil la: <https://www.who.int/groups/one-health-global-leaders-group-on-antimicrobial-resistance>
194. WHO. Global tuberculosis report 2020. Geneva: 2020. Disponibil la: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
195. WHO. Integrated surveillance of antimicrobial resistance (Guidance from a WHO Advisory Group). In: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2013. Disponibil la: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91778/1/9789241506311_eng.pdf
196. WHO. Report on antimalarial drug efficacy, resistance, and response: 10 years of surveillance (2010-2019). Geneva: 2020.
197. WHO. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated

Infection Worldwide. A Systematic Review of the Literature. Disponibil la: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501507eng.pdf>

198. WHO. Thirteenth General Programme of Work, 2019–2023. Geneva: World Health Organization; 2019. Disponibil la: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324775/WHO-PRP-18.1-eng.pdf>
199. WHO. WHO expert consultation meeting on antimicrobial resistance health burden estimation. Geneva: 2018. Disponibil la: [https://www.who.int/publications/m/item/antimicrobial-resistance-\(amr\)-health-burden-estimation---who-expert-consultation-meeting](https://www.who.int/publications/m/item/antimicrobial-resistance-(amr)-health-burden-estimation---who-expert-consultation-meeting)
200. WHO-AMR/PAHO W. ReLavra: Rede Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos. Disponibil la: <https://www.paho.org/en/topics/antimicrobial-resistance/latin-american-and-caribbean-network-antimicrobial-resistance>
201. Wilkinson A, Ebata A, MacGregor H. Interventions to Reduce Antibiotic Prescribing in LMICs: A Scoping Review of Evidence from Human and Animal Health Systems. In: *Antibiotics*. 2018; 8(1): 2.
202. Wu YH, Wang YH, Xue S, et al. Increased risks of antibiotic resistant genes (ARGs) induced by chlorine disinfection in the reverse osmosis system for potable reuse of reclaimed water. *Sci Total Environ*. 2022; 815: 152860.
203. Xiang Y, Yang Z, Zhang Y, et al. Influence of nanoscale zero-valent iron and magnetite nanoparticles on anaerobic digestion performance and macrolide, aminoglycoside, β -lactam resistance genes reduction. In: *Bioresour Technol*. 2019; 294: 122139.
204. Xu L, Campos LC, Canales M, Ciric L. Drinking water biofiltration: Behavior of antibiotic resistance genes and the association with bacterial community. In: *Water Res*. 2020; 182: 115954.
205. Xu L, Ouyang W, Qian Y, Su C, Su J, Chen H. High-throughput

- profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems. In: *Environ Pollut.* 2016; 213: 119-126.
206. Yeh PJ, Hegreness MJ, Aiden AP, Kishony R. Drug interactions and the evolution of antibiotic resistance. In: *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7(6): 460-466.
207. Zhang K, Li K, Xin R, et al. Antibiotic resistomes in water supply reservoirs sediments of central China: Main biotic drivers and distribution pattern. In: *Environ Sci Pollut Res.* 2022: 1-10.
208. Zhang S, Lin W, Yu X. Effects of full-scale advanced water treatment on antibiotic resistance genes in the Yangtze Delta area in China. In: *FEMS Microbiol Ecol.* 2016; 92(3):fiw065.
209. Zhang T, Hu Y, Jiang L, Yao S, Lin K, Zhou Y, Cui C. Removal of antibiotic resistance genes and control of horizontal transfer risk by UV, chlorination, and UV/chlorination treatments of drinking water. In: *Chem Eng J.* 2019; 358: 589-597.
210. Zhang T, Lv K, Lu Q, Wang L, Liu X. Removal of antibiotic-resistant genes during drinking water treatment: A review. In: *J Environ Sci.* 2021; 104: 415-429.
211. Zhao R, Feng J, Liu J, Fu W, Li X, Li B. Deciphering of microbial community and antibiotic resistance genes in activated sludge reactors under high selective pressure of different antibiotics. In: *Water Res.* 2019; 151: 388-402.
212. Zhu NJ, Ghosh S, Edwards MA, Pruden A. Interplay of Biologically Active Carbon Filtration and Chlorine-Based Disinfection in Mitigating the Dissemination of Antibiotic Resistance Genes in Water Reuse Distribution Systems. In: *Environ Sci Technol.* 2021; 55(13): 8329-8340.



JPIAMR-ACTION Joint Transnational Call for Proposals 2021
One Health interventions to prevent or reduce the development
and transmission of antimicrobial resistance", 2022-2025.