

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

CZU: [579,84+615.33.015.8](043.2)

ANTON Maria

**REZISTENȚA LA BETA-LACTAMINE A BACILILOR GRAM-
NEGATIVI IZOLAȚI DIN BIOSUBSTRATE CLINICE**

313.02 – MICROBIOLOGIE, VIRUSOLOGIE MEDICALĂ

Teză de doctor în științe medicale

Chișinău, 2025

Teza a fost elaborată în cadrul Laboratorului Microbiologic, Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova, Centrul de Epidemiologie Genomică al Universității Tehnice din Danemarca

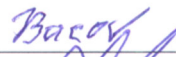
Conducător

Burduniuc Olga,
dr. hab. șt. med., conferențiar cercetător



Membrii comisiei de îndrumare:

Bucova Victoria,
dr. hab. șt. med., profesor cercetător



Spinei Larisa,
dr. hab. șt. med., profesor universitar



Bălan Greta,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar



Susținerea va avea loc la data de 24 decembrie, ora 14:00, în incinta USMF "Nicolae Testemițanu", bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205 în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 04.07.2025.

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Bacinschi Nicolae,
dr. hab. șt. med., profesor universitar, **președinte**



Burduniuc Olga,
dr. hab. șt. med., conferențiar cercetător, conducător de doctorat



Bălan Greta,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, referent



Ferdohleb Alexandru,
dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, referent



Lozan-Tîrșu Carolina,
dr. șt. med., conferențiar universitar, referent



Autor

Anton Maria



CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR	5
LISTA FIGURILOR	7
LISTA TABELELOR	8
INTRODUCERE	9
1. EVOLUȚIA FENOMENULUI DE REZISTENȚĂ LA ANTIMICROBIENE LA BACTERIILE GRAM-NEGATIVE	15
1.1. Caracteristica generală a bacililor Gram-negativi. Semnificație clinică	15
1.2. Antimicrobienele. Modul de acțiune	25
1.3. Mecanisme de rezistență ale bacililor Gram-negativi	27
1.4. Aspecte epidemiologice: distribuție, factori de risc și căi de transmitere a microorganismelor rezistente la antibiotic	31
1.5. Metode de diagnostic de laborator al bacililor Gram-negativi multirezistenți la antimicrobiene	33
1.6. Concluzii la capitolul 1	36
2. MATERIALE ȘI METODE UTILIZATE ÎN CERCETARE	37
2.1. Caracteristica generală a studiului	37
2.2. Metodele de cercetare	39
2.3. Prelucrarea matematico-statistică a datelor	46
2.4. Concluzii la capitolul 2	48
3. DISTRIBUȚIA BACILILOR GRAM-NEGATIVI ȘI PROFILURILE DE REZISTENȚĂ LA ANTIMICROBIENE	49
3.1. Diversitatea și prevalența speciilor de bacili Gram-negativi izolați din biosubstrate clinice	49
3.2. Profilurile de rezistență la antimicrobiene ale izolatelor cercetate	50
3.3. Sensibilitatea și specificitatea testelor utilizate pentru detectarea mecanismelor de rezistență	68
3.4. Concluzii la capitolul 3	72
4. GENOTIPURI ȘI GRUPURI FILOGENETICE ALE BACILILOR GRAM- NEGATIVI MULTIREZISTENȚI LA ANTIMICROBIENE	73

4.1. Diversitatea genelor de rezistență și caracteristica MLTS a bacililor Gram-negativi rezistenți la antimicrobiene	73
4.2. Elaborarea algoritmului metodologic de detectare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene.....	82
4.3. Concluzii la capitolul 4	84
DISCUȚII	85
CONCLUZII GENERALE	91
RECOMANDĂRI	93
BIBLIOGRAFIE	94
ANEXA 1. Structura chimică de bază a preparatelor antimicrobiene	104
ANEXA 2. Avantajele și limitările metodelor avansate de detectare a mecanismelor de rezistență antimicrobiană	105
ANEXA 3. Statistica descriptivă a rezistenței la preparatele antimicrobiene a BGN	106
ANEXA 4. Ghid Principii și procedure în testarea microbiologică a hemoculturilor	122
ANEXA 5. Ghid Asigurarea calității în diagnosticul microbiologică al infecțiilor tractului urinar	125
ANEXA 6. Ghid Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor	128
ANEXA 7. Adeverințe privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor conexe	131
ANEXA 8. Acte de implementare	137
ANEXA 9. Diplome și distincții	156
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI	159
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	165
ADNOTĂRI	166
CV-UL AUTORULUI	168

LISTA ABREVIERILOR

A. baumannii - <i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP – eng. <i>carbapenemase active on imipenem</i> (carbapenemază activă pe imipenem)
ADN - acid dezoxiribonucleic	ITU - infecții ale tractului urinar
Ag - antigen	K. pneumoniae – <i>Klebsiella pneumoniae</i> ,
ANSP - Agenția Națională pentru Sănătate Publică	KPC - <i>Klebsiella pneumoniae</i> producătoare de carbapenemaze
ARN acid ribonucleic	KpSC - complexului de specii <i>K. pneumoniae</i>
ATCC - eng. <i>American Type Culture collection</i>	LCR - lichid cefalorahidian
BGN - bacili gramnegativi	LOS - lipooligozaharidele
BLSE - beta-lactamaze cu spectru extins	LPS - lipopolizaharidele
CC-DDST - testul de sinergie dublu disc cu cefoxitină-cloxacilină	MALDI-TOF MS - Spectrometria de masă cu desorbție a energiei laser asistată de matrice
CDC - Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor	MBL - metalo- β -lactamaze
CG3 - cefalosporinele de generația a treia	MDR - multidrog-rezistent
CG4 - cefalosporine de generația a patra	MH - Mueller-Hinton
CLSI - eng. <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> (Institutul de Standarde Clinice și de Laborator)	MLTS – eng. <i>Multi-Locus Sequence Typing</i> (Tiparea secvenței multilocus)
CMI - concentrație minimă inhibitoare	NAM – eng. <i>nutrient agar medium</i> (mediul agar nutritiv)
CPS - polizaharidele capsulare	NDM – eng. <i>New Delhi Metallo-β-lactamaze</i> (β -lactamaza din New Delhi)
CRE - enterobacteriacee rezistente la carbapeneme	NP - Nordmann-Poirel
CTX-M - eng. <i>cefotaxime modifying enzyme</i> (enzimă modificatoare a cefotaximei)	OmpA - Proteina membranei exterioare A
DDST - testul de sinergie cu dublu disc	OMS - Organizația mondială a sănătății
E. coli - <i>Escherichia coli</i>	OXA - oxacilinaze
ECDC eng. <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> (Centrul European pentru Prevenirea și Controlul Bolilor)	P. aeruginosa – <i>pseudomonas aeruginosa</i>
EMB - eng. <i>eosin methylene blue</i>	PAV - pneumonia asociată ventilatorului
ESKAPE - (<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>inetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter spp.</i>)	PCR - reacția de polimerizare în lanț
E-test - testul epsilometru	PDR - panrezistență la antimicrobiene
EUCAST - eng. <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i> (Comitetul European pentru Testarea a Suptibilității la Antimicrobiene)	R - rezistent
HIV/SIDA – virusul imunodeficienței umane/ sindromul imunodeficienței umane dobândite	RAM - rezistența la antimicrobiene
IAAM - infecții asociate asistenței medicale	S – sensibil
IFS - infecțiile fluxului sangvin	SHV – eng. <i>Sulphydryl Reagent Variable</i>
Ig - imunoglobulină	SNC - sistemului nervos central
	SNP – polimorfism uninucleotidic
	SSD – sensibil la doze înalte
	ST – eng. <i>typing sequence</i> (tip de secvență)
	TEM - temocilin
	TSA - testarea susceptibilitate la antimicrobiene
	UE - Uniunea europeană
	VIM – eng. <i>Verona integrin Metallo -β-lactamaza</i>
	XDR - rezistență extinsă la antimicrobiene

LISTA FIGURILOR

Figura 1. Coloniile <i>E. coli</i> pe mediul a) NAM și b) Endo	16
Figura 2. Colonii de <i>E. coli</i> pe geloză-sânge: a) hemolitice, b) non-hemolitice	17
Figura 3 Colonii de <i>K. pneumoniae</i> crescute pe mediile de: a) agar de soia triptică și b) geloză-sânge	19
Figura 4. Colonii de <i>K. pneumoniae</i> crescute pe mediile: a) MacConkey și b) EMB	19
Figura 5. Colonii de <i>P. aeruginosa</i> pe mediile: a) MH, b) Cetrimide, c) MacConkey	22
Figura 6. Colonii de <i>A. baumannii</i> mediul a) geloză-sânge, b) CHROMagar <i>Acinetobacter</i> și c) Leeds <i>Acinetobacter</i> Medium	24
Figura 7. Mecanismele de acțiune ale antibioticelor	26
Figura 8. Tipuri de rezistență la preparatele antimicrobiene	27
Figura 9. Distribuția globală a diferitor tipuri de carbapenemaze	32
Figura 10. Design-ul studiului.....	38
Figura 11. Testul de sinergie dublu disc: tulpină de <i>E. coli</i> producătoare de AmpC	42
Figura 12. Colonii pe mediul cromogen CHROMagar™ ESBL: a) <i>E. coli</i> și b) <i>K. pneumoniae</i>	43
Figura 13. Interpretarea MAST® Carba PacE: - rezultat negativ, +/- rezultat incert și + rezultat pozitiv	44
Figura 14. Spectrul tulpinilor de BGN izolate în funcție de biosubstrat.....	49
Figura 15. Rezistența speciilor de BGN cercetate la grupele de preparate antimicrobiene.....	50
Figura 16. Profilurile de rezistență la peniciline și cefalosporine a tulpinilor de <i>E. coli</i> și de <i>K. pneumoniae</i> în funcție de biosubstrat.....	52
Figura 17. Profilurile de rezistență la carbapeneme și colistin a tulpinilor de <i>E. coli</i> și de <i>K. pneumoniae</i> în funcție de biosubstrat	53
Figura 18. Profilurile de rezistență la betalactamine ale speciilor <i>E. coli</i> și <i>K. pneumoniae</i> în funcție de secția de internare a pacienților	54
Figura 19. Profilurile de rezistență la fluorochinolone, aminoglicozide și colistin ale speciilor <i>E. coli</i> și <i>K. pneumoniae</i> în funcție de secția de internare a pacienților.....	56
Figura 20. Profilurile de rezistență ale speciilor <i>P. aeruginosa</i> și <i>A. baumannii</i> în funcție de secția de internare a pacienților	57
Figura 21. Mecanismele suspecte de rezistență la <i>E. coli</i> și la <i>K. pneumoniae</i> conform rezultatelor TSA	59
Figura 22. Spectrul enzimelor de rezistență detectate prin PCR la izolatele de <i>E. coli</i> , de <i>K. pneumoniae</i> și de <i>P. aeruginosa</i>	64

Figura 23. Spectrul enzimelor de rezistență detectate prin PCR la specia <i>A. baumannii</i>	65
Figura 24. Arborele filogenetic al genomilor tulpinilor de <i>K. pneumoniae</i> secvențiate (MLST, iTOL)	74
Figura 25. Analiza filogenetică a <i>K. pneumoniae</i> ST395 (iTOL).....	75
Figura 26. Răspândirea tulpinilor de <i>K. pneumoniae</i> în instituțiile medicale din țară în perioada 2020-2023.....	76
Figura 27. Arborele filogenetic al tulpinilor de <i>E. coli</i> construit în baza secvențelor de nucleotide asamblate după profilul MLST (MLST, iTOL).....	78
Figura 28. Analiză filogenetică a izolatelor de <i>E. coli</i> bazată pe tiparea secvenței multilocus a întregului genom (MLST, iTOL)	79
Figura 29. Tiparea izolatelor de <i>E. coli</i> și analiza bioinformatică a genomului (ResFinder, iTOL)	80
Figura 30. Arborele filogenetic al tulpinilor de <i>A. baumannii</i> construit pe baza SNP și asamblate după profilul MLST (MLST, iTOL)	82
Figura 31. Algoritmul de detectare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene a BGN	83
Figura A 1. Structura chimică de bază a preparatelor antimicrobiene	104

LISTA TABELELOR

Tabelul 1. Diversitatea moleculară a BLSE și a carbapenemazelor	29
Tabelul 2. Breakpoint-urile penicilinelor utilizate drept screening pentru prezența AmpC conform EUCAST (v.13.1, 2023)	41
Tabelul 3. Breakpoint-urile cefalosporinelor utilizate drept screening pentru prezența BLSE conform EUCAST (v.13.1, 2023)	42
Tabelul 4. Breakpoint-urile carbapenemelor utilizate drept screening pentru prezența carbapenemazelor conform EUCAST (v.13.1, 2023)	44
Tabelul 5. Rezultatele testării izolatelor de <i>E. coli</i> și de <i>K. pneumoniae</i> prin diferite metode de detecție a AmpC și BLSE	60
Tabelul 6. Rezultatele testării izolatelor de <i>E. coli</i> și de <i>K. pneumoniae</i> producătoare de carbapenemaze prin metode fenotipice și de biologie moleculară	62
Tabelul 7. Rezultatele testării izolatelor de <i>P. aeruginosa</i> și de <i>A. baumannii</i> la producerea de carbapenemaze prin diferite metode fenotipice și PCR	63
Tabelul 8. Combinații ale grupelor de enzime de rezistență identificate la <i>E. coli</i> și la <i>K. pneumoniae</i>	65
Tabelul 9. Combinații ale enzimelor de rezistență identificate la speciile cercetate	67
Tabelul 10. Numărul tulpinilor de <i>E. coli</i> și de <i>K. pneumoniae</i> producătoare de BLSE confirmate prin metoda E-test	68
Tabelul 11. Performanța testelor de confirmare fenotipică a producției de BLSE	69
Tabelul 12. Rezultatele confirmării prin PCR a tulpinilor de BGN producătoare de carbapenemaze	69
Tabelul 13. Performanța testelor fenotipice în detectarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze	70
Tabelul 14. Performanța testului imunocromatografic în detectarea tipului de enzimă	71
Tabelul A 2. Avantajele și limitările metodelor de detectare a mecanismelor RAM	105
Tabelul A3 1. Rezistența la preparatele antimicrobiene testate a tulpinilor de <i>E. coli</i> și <i>K. pneumoniae</i> , în funcție de anul izolării, secție, gen și biosubstrat	106
Tabelul A3 2. Rezistența la preparatele antimicrobiene testate a tulpinilor de <i>P. aeruginosa</i> și <i>A. baumannii</i> , în funcție de anul izolării, secție, gen și biosubstrat	109
Tabelul A3 4. Asocierea dintre rezistența la preparatele testate a tulpinilor de <i>E. coli</i> și <i>K. pneumoniae</i> și mecanismele de rezistență prezente	111
Tabelul A3 5. Asocierea dintre tulpinile de <i>P. aeruginosa</i> și de <i>A. baumannii</i> rezistente la carbapeneme și mecanismele de rezistență prezente	119

INTRODUCERE

Actualitatea temei

Rezistența la antimicrobiene (RAM) este una din cele mai grave amenințări ale secolului al XXI-lea pentru sănătatea publică și siguranța pacienților la nivel mondial. Devenind o povară atât socială, cât și economică gravă, RAM generează costuri ridicate de asistență medicală, precum și erori de tratament, soldate uneori cu deces [1,2,3].

Anual, în uniunea europeană (UE), conform datelor publicate de organizația mondială a sănătății (OMS), povara economică asociată RAM se ridică la 11,7 miliarde de euro și cuprinde cheltuieli pentru tratament, spitalizări prelungite și pierderea capacității de muncă. În lipsa măsurilor de prevenire și control a RAM, aceste cheltuieli ar putea crește până la 3,4 trilioane de euro anual în următorii 25 de ani [1,4,5,6].

Potrivit OMS, până în 2019, mortalitatea prin infecții determinate de bacterii rezistente la antibiotice a atins cifra de 1,27 milioane de decese la nivel global. În lipsa intervenției cu măsuri eficiente de combatere a RAM, această cifră ar putea crește până la aproximativ 39 milioane de decese, echivalentul a trei decese pe minut [7,8].

În ultimele decenii, provocări majore în medicină au devenit enterobacteriile, în special bacilii gramnegativi (BGN) nefermentativi ca principalii agenți patogeni cauzali ai infecțiilor invazive, responsabili de până la 75 % din cazurile de infecții, inclusiv infecții asociate asistenței medicale (IAAM) și infecții comunitare, și până la 42 % din cazurile de deces [9,10].

RAM se regăsește printre primele 10 amenințări de sănătate, care a atins deja cote alarmante în multe regiuni ale lumii. Conform OMS, gravitatea infecțiilor cauzate de bacterii rezistente se egalează cu povara determinată de gripă, de tuberculoză și de HIV/SIDA luate împreună [7,8].

Utilizarea irațională și abuzivă a preparatelor antimicrobiene a dus la apariție și la răspândirea bacteriilor multirezistente (MDR) [11].

Cercetările de la nivel național și internațional au constatat cantitatea crescută de antibiotice utilizată în comunitate și concentrația cea mai ridicată de antibiotice administrată per pacient este în spitale, ceea ce explică rezistența mai înaltă a patogenilor intraspitalicești [10,11].

Numeroase studii privind descoperirea și producerea unor noi antibiotice au constatat o încetinire semnificativă a acestui proces. Astfel, în ultimii 20 de ani doar 16 antibiotice ajung să fie aplicate clinic pentru pacienți [12,13].

În prezent, emergența rezistenței la carbapeneme periclitează nu doar viața pacienților cu IAAM, în special a celor critici, dar și aplicarea tehnicilor moderne în medicină [9,10].

Trezește îngrijorare nivelul de rezistență la carbapeneme al reprezentanților familiei *Enterobacteriaceae*. Consecințele pot fi mult mai dramatice în cazul asocierii cu rezistența la alte beta-lactamine și non-beta-lactamine din cauza diversității mari de enzime de rezistență [8].

Enterobacteriile rezistente la carbapeneme, printre care *Klebsiella pneumoniae* producătoare de carbapenemaze (KPC), metalo- β -lactamaze (MBL) și oxacilinaze (OXA), *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii*, precum și *Escherichia coli* producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE), reprezintă provocări serioase pentru clinicienii care urmăresc să identifice cea mai bună opțiune terapeutică pentru fiecare pacient. Infecțiile cauzate de aceste microorganisme au fost asociate cu un impact nefavorabil asupra duratei de spitalizare, ratei de vindecare clinică și de supraviețuire a pacienților [6,14,15].

În prezent, una din cele mai stringente probleme este creșterea rapidă a numărului de bacterii producătoare de OXA-48, în special a tulpinilor de *K. pneumoniae*. Spre deosebire de alte carbapenemaze produse de enterobacterii, OXA-48 se bazează pe alte mecanisme sinergistice pentru a media rezistența la carbapeneme, fapt ce complică detectarea acesteia [16].

La moment posibilitățile laboratoarelor microbiologice din țară de detectare a BLSE și a carbapenemazelor sunt limitate din cauza spectrului variat al acestor enzime și a lipsei unui algoritm bine definit de cercetare. În acest context, unele dintre mecanismele de dezvoltare a RAM nu pot fi pe deplin elucidate, persistând riscul de subdiagnosticare [17].

În vederea reducerii dezvoltării și răspândirii RAM se impune standardizarea metodelor de detecție și de confirmare a producerii de BLSE și de carbapenemaze cu elaborarea unui algoritm ce va permite corijarea terapiei empirice cu preparate antimicrobiene și aplicarea măsurilor eficiente de prevenire și control a rezistenței microbiene [15].

Cercetările, datele și analizele de înaltă calitate sunt esențiale ca bază pentru elaborarea de măsuri noi pentru combaterea RAM și pentru a ajuta factorii de decizie să perfecționeze activitatea în acest domeniu.

Scopul cercetării: evaluarea profilurilor de rezistență la β -lactamine și stabilirea grupurilor filogenetice ale BGN prioritari cu elaborarea algoritmului metodologic standardizat de detectare a mecanismelor de rezistență și propunerea de măsuri eficiente de prevenire și control a rezistenței la antimicrobiene.

Obiectivele cercetării: determinarea profilurilor de rezistență la antimicrobiene ale BGN izolați din diferite biosubstraturi clinice; caracterizarea moleculară a BLSE și a carbapenemazelor aferente BGN; analiza comparativă a diferitor tehnici microbiologice de identificare a BGN rezistenți la beta-lactamine cu dezvoltarea unui algoritm metodologic standardizat; propunerea de măsuri eficiente de prevenire și control a infecțiilor cauzate de BGN MDR.

Ipoteza cercetării

Particularitățile microbiologice și epidemiologice ale rezistenței BGN la antimicrobiene, influențate de variabilitatea mecanismelor de rezistență, precum și de eficiența supravegherii și controlului răspândirii acestor microorganisme, contribuie la reducerea impactului socioeconomic al infecțiilor determinate de bacteriile rezistente și la consolidarea măsurilor de combatere a fenomenului de RAM.

Sinteza metodologiei de cercetare

Proiectul de cercetare s-a desfășurat pe perioada anilor 2020-2023 în cadrul Laboratorului National de Referință în Supravegherea Epidemiologică a RAM al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică (ANSP), în colaborare cu Centrul de epidemiologie genomică al Universității Tehnice din Danemarca (Acord de colaborare nr. 1 din 24.04.2023).

Datele au fost colectate în cadrul Sistemului național de supraveghere epidemiologică a RAM, din care fac parte zece laboratoare microbiologice teritoriale ale Direcției Diagnostic de Laborator a ANSP și laboratoarele instituțiilor medico-sanitare publice (zece laboratoare) și private (patru laboratoare).

Studiul a inclus determinarea prevalenței și a diversității speciilor de BGN izolați din biosubstraturi clinice, precum și analiza profilurilor de rezistență la preparatele antimicrobiene dezvoltate la patogenii circulanți pe teritoriul Republicii Moldova. Prin metode fenotipice și genotipice, au fost determinate principalele enzime de rezistență produse de BGN, evidențiind și distribuția lor printre patogenii studiați. Cercetarea tulpinilor de BGN prin tehnica de secvențiere a întregului genom a permis identificarea determinantilor genetici ai factorilor de patogenitate și de rezistență la antibiotice și determinarea tipului de secvență, precum și analiza structurii genetice a elementelor mobile. Rezultatele obținute au fost analizate utilizând platformele de analiză bioinformatică - *Center for Genomic Epidemiology* și *PathogenWatch* – care, pe lângă genomul de bază, oferă posibilitatea obținerii informației despre mutațiile asociate cu rezistența din repliconii plasmidici ai bacteriei, cu rol major în dezvoltarea rezistenței antimicrobiene.

Analiza statistică comparativă a metodologiilor utilizate pentru determinarea mecanismelor de rezistență ale BGN a permis elaborarea unui algoritm metodologic adaptat necesităților medicilor clinicieni și pacienților în tratamentul infecțiilor, dar și posibilităților laboratoarelor microbiologice din țară, în vederea atingerii unui nivel înalt de eficiență și specificitate.

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute. A fost realizat un studiu complex al BGN prioritari cu utilizarea metodelor fenotipice contemporane și a tehnicilor de biologie moleculară, ceea ce a permis identificarea și stabilirea pattern-urilor de rezistență cu detectarea principalelor mecanisme de rezistență ale acestor patogeni.

Rezultatele studiului au servit drept bază pentru elaborarea unui algoritm standardizat de detectare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, care va fi implementat în laboratoarele microbiologice din cadrul rețelei naționale de supraveghere a RAM.

Prin tehnica de secvențiere a întregului genom bacterian, utilizată în premieră în țara noastră în cercetarea BGN rezistenți la preparatele antimicrobiene, a fost apreciată și evaluată poziția acestor microorganisme în arborii filogenetici globali. Aceste date sunt extrem de importante pentru prognozarea evoluției rezistenței acestor germeni la nivel regional și vor permite fortificarea și consolidarea sistemului național de supraveghere a RAM și definirea direcțiilor prioritare în supravegherea și controlul patogenilor MDR.

Rezultatele obținute care au contribuit la soluționarea problemei științifice. În cadrul acestei cercetări a fost identificat spectrul microbiologic al BGN prioritari, diversitatea genotipică și fenotipică a tulpinilor rezistențe la antimicrobiene, inclusiv: prevalența tulpinilor de BGN producătoare de BLSE și de carbapenemaze în Republica Moldova; spectrul de enzime de rezistență la BGN; tipul de secvență predominant la tulpinile de BGN circulante pe teritoriul țării. A fost elaborat un algoritm standardizat de determinare a markerilor rezistenței la antimicrobiene și propuse de măsuri îmbunătățite de supraveghere și control al RAM bazate pe dovezi.

Semnificația teoretică. Rezultatele acestui studiu oferă argumentarea teoretică pentru consolidarea și fortificarea Strategiei și a Planului național de acțiuni pentru supravegherea și combaterea RAM. Datele obținute pot fi utilizate și pentru revizuirea politicilor naționale de utilizare a preparatelor antimicrobiene prin actualizarea și adaptarea protocoalelor clinice naționale la situația actuală privind RAM în Republica Moldova.

Implementarea practică a rezultatelor. În baza rezultatelor cercetărilor efectuate a fost argumentat și elaborat algoritmul de determinare a mecanismelor RAM ale BGN prioritari.

Pentru îmbunătățirea calității investigațiilor microbiologice și în scopul conștientizării populației, inclusiv de vârstă fragedă, cu privire la prevenirea RAM, au fost elaborate două ghiduri pentru personalul medical implicat în procesul de colectare, de transportare și de procesare a probelor de sânge, de lichid cefalorahidian (LCR) și urină, precum și broșura „Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene”. Ultima a fost expusă la *International exhibition of innovation and technology transfer EXCELLENT IDEA – 2023, 2nd edition, Chisinau* - „Method for raising the degree of awareness in children about the prevention of antimicrobial resistance”, unde a fost apreciată cu medalie de argint.

Studiul s-a finalizat cu elaborarea ghidului: „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor” și indicația metodică „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene” aprobată la ședința Consiliului de management al

calității al USMF „Nicolae Testemițanu”, proces-verbal, nr.2 din 29 noiembrie 2023, care au fost incluse în programele de studii pentru prelegeri și lucrări practice pentru studenți, rezidenți și medici, și implementate în practică în laboratoarele centrelor de sănătate publică.

Aprobarea rezultatelor

Metodologia de cercetare și designul studiului au fost evaluate și aprobate la ședința Comitetului de etică a cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu”, fiind eliberat aviz favorabil la proiectul științific de doctorat cu titlul „Rezistența la beta-lactamine a bacililor gramnegativi izolați din biosubstraturi clinice ”, proces-verbal nr. 1 din 10.01.2022.

Tema tezei a fost discutată și aprobată în cadrul unității primare la ședința comună a conducătorului de doctorat, membrii comisiei de îndrumare și colaboratorii Laboratorului științific Supravegherea rezistenței la Antimicrobiene, Laboratorul microbiologic și Secția Supravegherea epidemiologică a infecțiilor asociate asistenței medicale și rezistență antimicrobiană (extras din proces verbal nr. 1 al ședinței comune din 11.02.2022), precum și la Seminarul științific de profil 313. Imunologie, microbiologie, virusologie, specialitățile 321.09. Boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală 313.02. Microbiologie, virusologie medicală (extras din proces verbal nr. 1, din 27.01.2023).

Prezentarea rezultatelor cercetării

Rezultatele cercetărilor sunt reflectate în 28 de lucrări științifice (patru – ca prim autor, două - monoautor), inclusiv: patru articole în reviste indexate în baza de date SCOPUS, șase articole în reviste științifice naționale, un articol în reviste editate în străinătate, două teze la foruri științifice internaționale, opt teze la foruri științifice naționale, un ghid, o indicație metodică, o broșură. Rezultatele cercetărilor au fost diseminate și prin opt participări active la foruri științifice. În urma cercetărilor efectuate, au fost obținute patru certificate de inovator.

Volumul și structura tezei

Teza este expusă pe 65 pagini de text de bază și include următoarele compartimente: *foaie de titlu, cuprins, lista abrevierilor, a tabelor și a figurilor, introducere, patru capitole, concluzii generale, recomandări*, 165 de referințe bibliografice și nouă anexe. Materialul iconografic cuprinde 14 tabele și 31 de figuri.

Cuvinte-cheie: *rezistența la antimicrobiene, bacili gramnegativi MDR, mecanisme de rezistență, β -lactamaze cu spectu extins, carbapenemaze.*

Sumarul compartimentelor tezei

În compartimentul ***Introducere*** este abordată problema fenomenului RAM cu argumentarea actualității și a necesității elucidării acestei probleme; sunt formulate scopul și obiectivele

cercetării, se descriu noutatea, originalitatea problemei și soluționarea acesteia semnificația teoretică și valoarea aplicativă a rezultatelor obținute.

Capitolul 1 cuprinde o sinteză a datelor relevante din literatura de specialitate din ultimul deceniu, privind evoluția fenomenului RAM a BGN. Sunt descrise bazele teoretice și rezultatele cercetărilor la nivel național și internațional în domeniul diagnosticului microbiologic al RAM, precum și aspectele epidemiologice ale acestui fenomen. O atenție deosebită este acordată principalelor mecanisme de rezistență detectate la BGN, precum și tehnicilor de laborator de detectare a acestor patogeni. Capitolul se încheie cu expunerea premiselor care au stat la baza inițierii prezentului studiu.

În **Capitolul 2** este expusă detaliat metodologia și materialul de cercetare utilizate pentru realizarea obiectivelor și atingerea scopului propus. Sunt descrise metodele analitice, descriptive, microbiologice și statistice folosite în cercetare și este prezentat eșantionul de cercetare care include tulpini de: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii*.

În **Capitolul 3** sunt prezentate rezultatele cercetării rezistenței tulpinilor de BGN, cu determinarea prevalenței speciilor de BGN în funcție de biosubstrat, analiza profilurilor de rezistență la antimicrobiene și spectrul enzimelor de rezistență detectate.

Rezultatele obținute indică prevalența *K. pneumoniae* în izolatele din sânge, a *A. baumannii* – în izolatele din LCR și a *E. coli* – în izolatele din urină. Analiza profilurilor de rezistență la preparatele antimicrobiene testate a evidențiat nivele îngrijorătoare la toate speciile cercetate, în special la *A. baumannii*, 88,4 % din tulpinile acestei specii prezentând rezistență la carbapeneme.

De asemenea sunt descrise rezultatele determinării spectrului enzimelor de rezistență. La *E. coli* și la *K. pneumoniae* a predominat OXA-48, la *P. aeruginosa* – NDM, iar la *A. baumannii* – OXA-23. Concluziile de la acest capitol reflectă principale constatări ale investigațiilor efectuate.

În **Capitolul 4** sunt descrise genotipurile și grupurile filogenetice ale BGN rezistenți la antibiotice. Este prezentată caracteristica tipizării secvențelor multi-locus (MLTS – Multi-Locus Sequence Typing) la tulpinile cercetate prin analiza secvențelor genomice, a structurii genetice a elementelor mobile ale fiecărui izolat, precum și a arborilor filogenetici.

Analiza tulpinilor de *K. pneumoniae* secvențiate a demonstrat predominarea tipului ST395, identificat în 56 de tulpini. Printre tulpinile de *E. coli* analizate a predominat tipul ST131 (9 izolate). Printre tulpinile de *A. baumannii* secvențiate, cel mai frecvent întâlnit fiind tipul ST2063.

Capitolul include și elaborarea algoritmului de determinare a mecanismelor de rezistență ale BGN pentru perfecționarea diagnosticului de laborator al BLSE și al carbapenemazelor.

Compartimentul **Concluzii generale și recomandări** cuprinde patru concluzii generale și recomandări care demonstrează îndeplinirea obiectivelor trasate și atingerea scopului stabilit.

1. EVOLUȚIA FENOMENULUI DE REZISTENȚĂ LA ANTIMICROBIENE LA BACTERIILE GRAMNEGATIVE

1.1 Caracteristica generală a bacililor Gram-negativi. Semnificația clinică

Grupul de BGN cuprinde un număr mare de specii, majoritatea fiind prezente în stare naturală pe întreaga suprafață a globului. Familia *Enterobacteriaceae* reunește aproximativ 80 % din bacteriile gramnegative, cu rol important în etiologia maladiilor transmisibile, printre care infecții ale tractului urinar (ITU), pneumonii, diaree, meningită, sepsis, șoc endotoxic ș.a. [18,19].

Corpul enterobacteriilor este protejat de o capsulă sub care se află peretele celular subțire alcătuit din peptidoglycan (PG) și acoperit de o membrană lipopolizaharidă. Acest grup de bacterii au fost numite gramnegative deoarece, din cauza peretelui celular subțire (comparativ cu bacteriile grampozitive), nu rețin colorația violetului de gențiană în urma colorației după metoda Gram și la microscop apar colorate în roz sau în roșu [18].

BGN nefermentativi, cărora le revin celelalte 20 % din BGN, sunt un grup taxonomic heterogen de bacili aerobi nesporulați, saprofiți în mediul înconjurător, unele specii preferând intestinul uman în calitate de comensal [20].

Din cauza potențialului înalt de răspândire și îndeosebi după publicarea de către OMS, în 2017, a listei agenților patogeni prioritari (de importanță clinică), atenția față de BGN a sporit considerabil. Printre cele mai studiate specii de BGN se numără *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* și alte specii nu mai puțin importante [21,22].

Escherichia coli

E. coli a fost descoperită în 1885 de către pediaterul german Theodor Escherich (1857–1911), care a izolat-o din masele fecale ale copiilor. Această bacterie poate fi întâlnită în mod obișnuit pe tegumentele corpului uman, în mediul extern (suprafețe, alimente) și în corpul oamenilor și al animalelor homeoterme. Din punct de vedere microbiologic, această specie este cel mai frecvent izolată și studiată în laboratoare, deoarece rezistă tip îndelungat în masele fecale, în sol și în apă, pentru ultima fiind și un indicator al contaminării (*Indicele coli*) [23].

Clasificarea taxonomică: regnul *Monera*; filumul: *Proteobacterii*; clasa: *Proteobacteria*; ordinul: *Enterobacterales*; familia: *Enterobacteriaceae*; genul: *Escherichia*; specia: *Escherichia coli* [24].

Morfologia: *E. coli* se prezintă sub forma unor celule coliforme, asporulate vizualizate la microscop atât solitare, cât și în perechi. Pot avea dimensiuni variate, de la 1–3 μm până la 0,4–0,7 μm. Mobilitatea se datorează flagelilor aranjați peritrih, se întâlnesc și forme imobile [24].

Caractere culturale. Întrucât nu este o bacterie pretențioasă, poate fi cultivată ușor și ieftin într-un laborator obișnuit, ceea ce a făcut să fie cea mai studiată bacterie și o specie importantă în

biotehnologie și în microbiologie, servind drept gazdă pentru ADN-ul recombinant și pentru manipulările de sinteză a proteinelor [25].

În condiții de laborator, *E. coli* este cultivată pe medii solide sau lichide care includ: glucoză, ca sursă de carbon și de energie, săruri de amoniu, în calitate de sursă de azot, și un șir de săruri și de oligoelemente [26].

Printre cele mai utilizate medii pentru cultivarea *E. coli* se numără: *Nutrient agar medium* (NAM), *Endo*, agarul *Mac Conkey* și agarul *Eosin methylene blue* (EMB) [26].

Creșterea optimă pe medii de cultură a *E. coli* se desfășoară la temperatura de 37°C (98 °F), dar unele tulpini de laborator se pot multiplica și la temperaturi de până la 49 °C (120,2 °F), având nevoie doar de 20 min. pentru a se reproduce [24,25].

E. coli poate supraviețui la un pH cuprins între 4,5 și 9,5, dar creșterea maximă este observată la 7,0, adică la un pH neutru. Cerințele *E. coli* față de aciditatea mediului variază în funcție de tulpină [24].

Pe mediul NAM, *E. coli* crește în colonii izolate, rotunde, cu diametrul de la 1 până la 3 mm, convexe, albe-cenușii, opace sau translucide, umede, netede (S), după o incubare de până la 24 de ore și rugoase, în cazul incubării mai îndelungate (figura 1a) [24].

Pe mediul Endo, *E. coli* crește în colonii de culoare roșie cu un luciu metalic specific. Agenții selectivi conținuți în mediu – deoxicolat de sodiu și lauril sulfat de sodiu – ajută la inhibarea metabolizării lactozei de către bacteriile necoliforme cu producerea de aldehydă și de acid (figura 1b) [24,26].

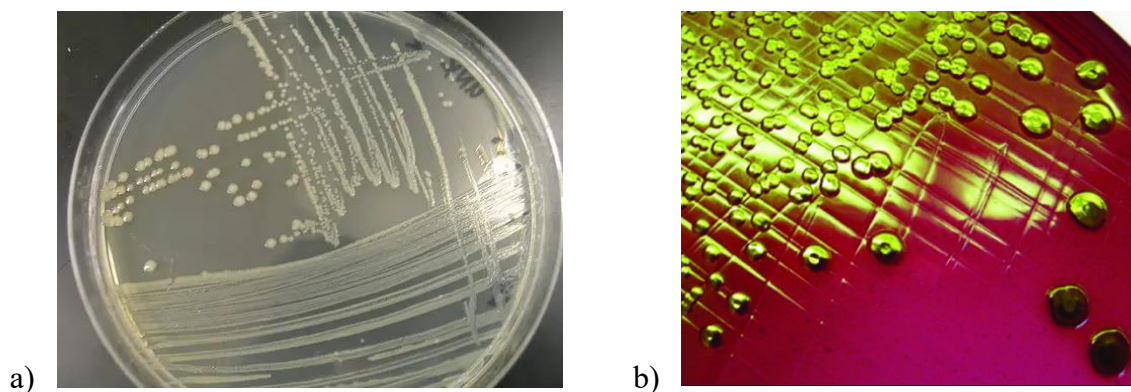


Figura 1. Coloniile *E. coli* pe mediul a) NAM și b) Endo [24]

Creșterea *E. coli* pe geloză-sânge permite diferențierea speciilor patogene, adică a speciilor izolate de la pacienți cu infecții determinate de această bacterie, de speciile non-patogene (saprofite), izolate de la persoane sănătoase. Speciile patogene prezintă beta-hemoliză, în timp ce speciile saprofite nu sunt hemolitice, adică prezintă gama-hemoliză (figura 2) [24].

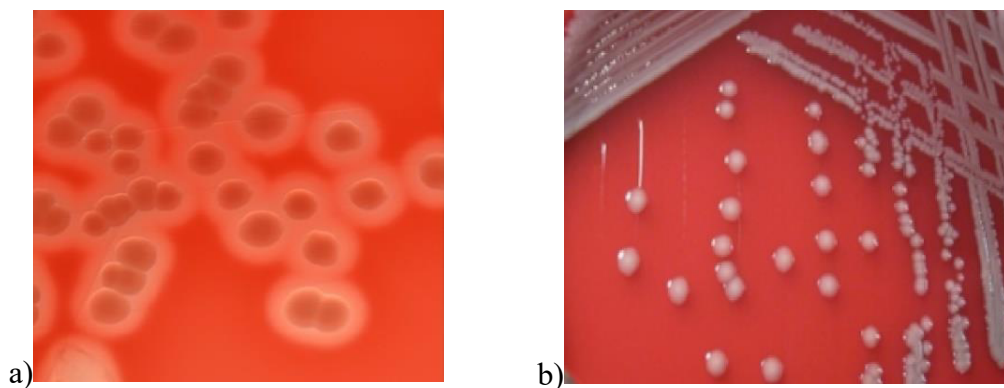


Figura 2. Colonii de *E. coli* pe geloză-sânge: a) hemolitice, b) non-hemolitice [24]

Structura antigenică

E. coli prezintă trei tipuri de antigeni (Ag), ceea ce a permis clasificarea speciei în 150–200 de serotipuri sau serogrupuri. Ag somatic O distinge 180 de tipuri, Ag flagelar H – 75 tipuri și Ag capsular K – 103 tipuri. Diferite combinații dintre acești antigeni dau naștere la diverse serovariante [27].

Ag O este de origine lipopolizaharidică și se găsește în peretele celular al bacteriei, fiind stabil la variațiile de temperatură și rezistent la acțiunea alcoolului, dar sensibil la formol. Are specificitate de grup, de gen și de specie, iar funcția sa constă în stimularea producției de imunoglobuline (Ig) de tip M. Se cunosc peste 180 de serovariante cu Ag O [27,28,29].

Ag H are origine proteică, este sensibil la temperaturi înalte și la alcool, în schimb este rezistent la formol. Ag H răspunde de stimularea producerii de Ig G. Există peste 55 de serovariante cu Ag H [27,29].

Ag K este termovariabil și, în funcție de această particularitate, se deosebesc trei tipuri de antigen – A, B și L. Antigenul de tip A asigură tulpinilor o rezistență mai înaltă la procesele de bacterioliză și de fagocitoză, această capacitate fiind inactivată la 100 °C. Antigenul de tip B și de tip L garantează tulpinilor o patogenitate mai înaltă, mai ales în raport cu nou-născuții [27,29].

Ag F de suprafață, fiind de natură proteică, intră în componența fimbriilor sau a pililor. Este un antigen sensibil la temperaturile înalte și asigură aderența celulei bacteriene la diverse tipuri de țesuturi. Pentru Ag F este caracteristică specificitatea de tip și de specie [27,28,29].

Semnificația clinică

E. coli colonizează tractul gastrointestinal al nou-născutului la câteva ore după naștere și ajută la menținerea sănătoasă a acestuia [30].

Mai multe tulpini de *E. coli* au fost identificate ca probiotice eficiente utilizate în prezent în industria farmaceutică [30,31].

Unele tulpini de *E. coli* pot fi patogene, provocând infecții intestinale și extraintestinale atât la oameni, cât și la animale. Anumite serotipuri, prin intermediul plasmidelor, transpozonilor,

bacteriofagilor și/sau a insulelor de patogenitate, s-au dezvoltat în forme patogene și, dobândind factori de virulență pot induce diaree atunci când pătrund în organism cu alimentele sau cu băuturile contaminate [24,29,30,31].

Infecțiile determinate de tulpini patogene de *E. coli* se manifestă predominant prin simptome gastrointestinale, incluzând crampe abdominale intense, diaree, colită hemoragică, vărsături și, ocazional, febră. În situații excepționale, tulpinile cu virulență crescută pot genera complicații severe, precum necroză intestinală, perforație, peritonită, mastită, sepsis sau pneumonie [32].

Gravitatea infecției depinde în mare parte de patotipul care a cauzat infecția, distingându-se *E. coli* enteropatogenă, reprezentată de serogrupurile O18ac, O20, O25, O55 sau O111, *E. coli* enterotoxigenă – O6, O8, O11, O78 și O148, *E. coli* enteroinvazivă, - O157:H7, *E. coli* enteroagregativă, *E. coli* uropatogenă, *E. coli* asociată meningitei neonatale [33,34].

Klebsiella pneumoniae

Speciile genului *Klebsiella* au fost descrise pentru prima dată în 1882 de către Carl Friedländer care le-a izolat de la un pacient care a decedat din cauza pneumoniei. Prima specie din acest gen, descrisă de Karl von Frisch, a fost *Klebsiella rhinoscleromatis*, izolată de la un pacient cu sclerom [35,36].

Clasificarea taxonomică: regnul *Monera*; filumul: *Proteobacterii*; clasa: *Gammaproteobacterii*; ordinul: *Enterobacterales*; familia: *Enterobacteriaceae*; genul: *Klebsiella*; specia: *Klebsiella pneumoniae* [35].

Genul *Klebsiella* cuprinde o mare diversitate de specii, inclusiv tulpini aparținând complexului de specii *K. pneumoniae* (KpSC) și alte câteva specii de *Klebsiella* (*K. indica*, *K. terrigena*, *K. spallanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* și *K. michiganensis*) cu o identitate de nucleotide cu KpSC de numai 90 % [37].

În prezent au fost identificate șapte filogrupuri care aparțin complexului de specii KpSC, inclusiv *K. pneumoniae* (Kp1), *K. quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* (Kp2), *K. variicola* subsp. *variicola* (Kp3), *K. quasipneumoniae* subsp. *similipneumoniae* (Kp4), *K. variicola* subsp. *tropica* (Kp5), *K. quasivariicola* (Kp6) și *K. africana* (Kp7) [38].

Morfologia. Genul *Klebsiella* include bacterii sub formă de bastonașe cilindrice gram-negative, ciliate, incapsulate, imobile, asporulate. Celula bacteriană poate avea dimensiuni de la 0,3 până la 1 μm în lățime și de la 0,6 până la 6 μm în lungime [39]. Unele tulpini clinice de *K. pneumoniae* pot fi echipate cu un singur flagel, care-i determină motilitatea, considerat și un factor de virulență. Microscopic, celulele de *K. pneumoniae* sunt aranjate în perechi sau în lanțuri scurte, unindu-se cu polii [40].

Bacteriile sunt anaerobi facultativi, temperatura optimă de creștere este de 37 °C, dar pot supraviețui și la temperaturi cuprinse între 12 °C și 42 °C [35,41,42].

Caractere culturale. Specia include bacterii oxidazo-negative, catalazo-pozitive și indol-negative, fermentează lactoza, produc urează, lizindecarboxilază, nu produc ornitin decarboxilază și dezoxiribonucleaze, reduc nitrații până la nitriți, folosesc acid malonic și citrat ca sursă de carbon, nu provoacă dezaminarea fenilalaninei [40].

În mediile lichide, *K. pneumoniae* provoacă o tulburare uniformă, formând pe suprafața lichidului un inel caracteristic. Cresc bine pe mediile solide neselective, precum agarul de soia triptică și geloză-sânge, dând naștere la colonii caracteristice mucoase, strălucitoare, convexe, netede, alb-cenușii, cu tendință de confluență (figura 3) [43].

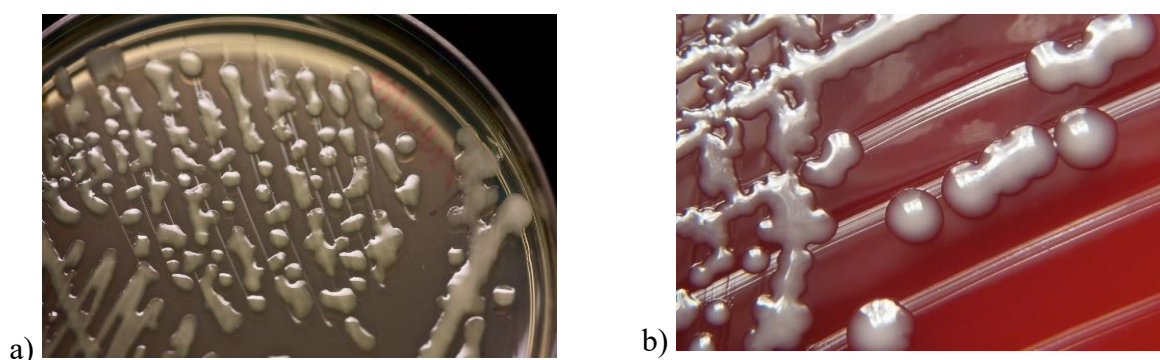


Figura 3 Colonii de *K. pneumoniae* crescute pe mediile de: a) agar de soia triptică și b) geloză-sânge [43]

Pe mediul de diferențiere MacConkey, care conține factori selectivi (violet de gențiană și deoxicolat de sodiu) și un factor de diferențiere (lactoza), *K. pneumoniae* formează colonii de tip S, convexe, mucoase, strălucitoare de culoare roz (figura 4a) [35].

Pe agarul EMB, ce conține și factori de diferențiere (glucoză și/sau zaharoza), *K. pneumoniae* formează colonii asemănătoare cu cele de pe mediile enumerate mai sus, cu excepția culorii, care pe mediul EMB este neagră-albăstrui (figura 4b) [35].

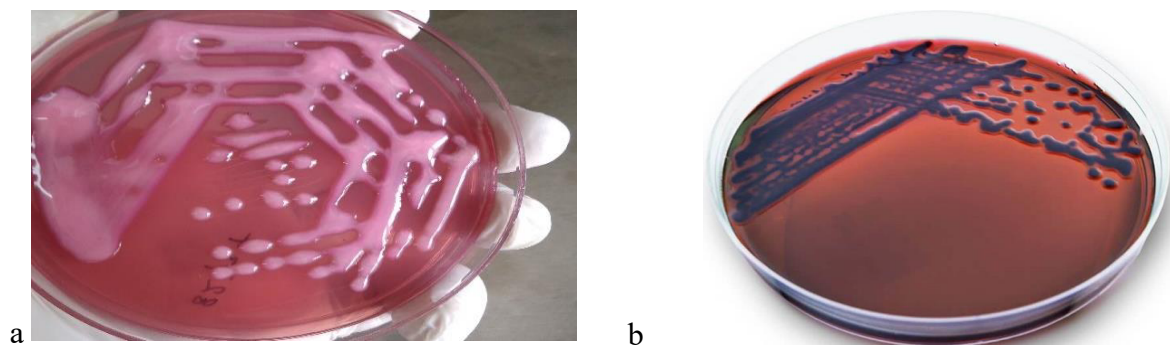


Figura 4. Colonii de *K. pneumoniae* crescute pe mediile: a) MacConkey și b) EMB [43]

Factorii de virulență

Patogenitatea *K. pneumoniae* este determinată de un șir de factori de virulență responsabili de declanșarea infecției și de rezistența bacteriei la preparatele antimicrobiene [44].

Factorii majori de virulență, care joacă un rol esențial în patogeneza infecțiilor cauzate de *K. pneumoniae*, sunt polizaharidele capsulare (CPS) – Ag K și lipopolizaharidele (LPS) – Ag O. Acești factori critici de virulență favorizează pătrunderea bacteriei în fluxul sangvin al gazdei, inducând-o în șoc septic [35,39].

Factori minori de virulență sunt adezinele fimbriale și nefimbriale, sideroforii (aerobactină, enterobactină, salmochelină și yersiniabactină), enterotoxinele termostabile și termolabile, citolizinele și capacitatea de a forma biofilm [35,39].

CPS, principalul factor de virulență, formează un strat care învelește ermetic peretele celulei bacteriene. Acest strat este responsabil pentru interacțiunea inițială dintre celula bacteriană și celula organismului-gazdă, fiind vital pentru supraviețuirea *K. pneumoniae*, protejând-o de fagocitoză [39].

LPS, numite și endotoxine, este principalul Ag al peretelui celular al *K. pneumoniae* și un component integral și esențial al membranei celulare cu proprietăți citotoxice, imunomodulatoare și proinflamatorii puternice. Acest factor răspunde de declanșarea șocului endotoxic, care însoțește infecțiile sistemului nervos central (SNC), infecțiile fluxului sangvin (IFS) și pneumonia [45].

Adezinele fimbriale și nefimbriale sunt factori de aderare, care asigură fixarea celulei bacteriene de țesutul gazdei [35].

Sideroforii bacterieni, numiți purtători de fier, sunt compuși chimici organici cu masă moleculară mică, de natură nonproteică și nonporfirină, cu rol de captare a ionilor de fier [46]. În celulele bacteriene, fierul este implicat în procesul de sinteză a ADN-ului, precum și a diferitor enzime. De aceea, bacteriile concurează cu gazda pentru sursa de fier disponibilă, iar supraviețuirea *K. pneumoniae* în mediu depinde de capacitatea sideroforilor de a le satisface cererea de fier [47].

Enterotoxinele termostabile și termolabile sunt factori importanți de patogenitate extracelulară ai *K. pneumoniae*. Plasmidele, care transportă gene ce codifică enterotoxinele dobândite de tulpinile rezistente la medicamente, pot contribui la declanșarea epidemiilor. Hemolizinele participă la distrugerea globulelor roșii ale organismului-gazdă [35].

Un rol esențial în colonizarea și în persistența *K. pneumoniae* pe membranele mucoase ale gazdei și pe suprafețele cateterelor, implanturilor etc., revine biofilmului. Formarea acestuia este favorizată de așa caracteristici patogene importante ale *K. pneumoniae* precum: supraproducția de

mucus (tulpini hipervirulente de *K. pneumoniae*), un anumit tip de înveliș, transferul genelor de adezină în plasmide [48].

Semnificatia clinică

Specia *K. pneumoniae* este foarte răspândită în colecțiile clinice, reprezentând o rată de izolare de aproximativ 85 % [37]. Ea a fost clasificată ca unul dintre organismele ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter spp.*), cunoscute ca agenți patogeni clinici foarte virulenți și rezistenți la antimicrobiene. Două subspecii de *K. pneumoniae* (*K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* și *K. pneumoniae* subsp. *Rhinoscleromatis*) sunt asociate cu un sindrom specific pentru rinita atrofică și rinosclerom [49].

În ultimele două decenii, *K. pneumoniae* a devenit semnificativă din punct de vedere clinic din cauza amplitudinii dezvoltării și tendinței de răspândire a rezistenței la antibiotice și a capacității de a cauza infecții grave [50]. Mai recent, specia a fost identificată ca agent etiologic frecvent al pneumoniei dobândite în instituțiile medicale, reprezentând aproximativ 10 % din toate infecțiile intraspitalicești. *K. pneumoniae*, ca specie multidrog-rezistentă, este unul dintre principalii factori responsabili pentru IAAM, printre care pneumonia, ITU și IFS. Producția de BLSE și de carbapenemaze de către *K. pneumoniae* are ca rezultat rate mari de mortalitate (40-50 %), mai ales în rândul pacienților critici și imunodeprimați [51,52].

Apariția și răspândirea tulpinilor cu rezistență extinsă (XDR) și panrezistente (PDR) la antimicrobiene, prin acumularea continuă de mutații asociate cu rezistență, protejează *K. pneumoniae* de majoritatea antimicrobienelor disponibile în prezent [50,53].

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa a fost descrisă pentru prima dată de către farmacistul francez Carle Gessard în 1982, în studiul „Colorarea albastră-verzuie a bandajelor”. Cel mai probabil, Gessard a descris pigmentul piocianina, un compus fenazinic albastru-verziu care posedă proprietăți atât antimicrobiene, cât și toxice [54]. *P. aeruginosa* este o bacterie răspândită pe larg în natură, fiind întâlnită în sol, dar și în rezervoarele de apă poluate cu dejecții animale și umane. Cele mai frecvent cultivate în laborator sunt două tulpini de *P. aeruginosa* (PAO1 și PA14), utilizate pentru a crea resurse genomice, inclusiv biblioteci de mutanți [55].

Clasificarea taxonomică: regnul *Monera*; filumul: *Proteobacteria*; clasa: *Gammaproteobacteria*; ordinul: *Pseudomonadales*; familia: *Pseudomonadaceae*; genul: *Pseudomonas*; specia: *Pseudomonas aeruginosa* [54].

Morfologia. *P. aeruginosa* este o bacterie gramnegativă heterotrofă, mobilă, în formă de bastonaș, cu dimensiunile de aproximativ 1–5 μm lungime și 0,5–1,0 μm lățime. Este un aerob

facultativ care crește în prezența nitraților ca acceptor terminal de electroni. Specia poate crește și anaerob în prezența argininei, dar în aceste condiții abilitățile sale fermentative sunt limitate și, ca rezultat, creșterea este foarte lentă sau chiar lipsește [55].

Caractere culturale. *P. aeruginosa* crește bine la 37 °C, dar poate supraviețui la temperaturi cuprinse între 4 și 42 °C. Cel mai bine, culturile cresc în condiții aerobe, indiferent de mediu [56].

Bacteria crește bine pe bulionul Luria Broth, dar poate fi utilizată și o gamă largă de compuși ca singure surse de carbon și/sau de azot [56], precum și diverse medii diferențiale (agar Cetrimide, geloză-sânge, agar Mueller-Hinton (MH) și MacConkey) pe care se poate observa producția pigmentului piocianină (figura 5), caracteristic speciei [56,57].

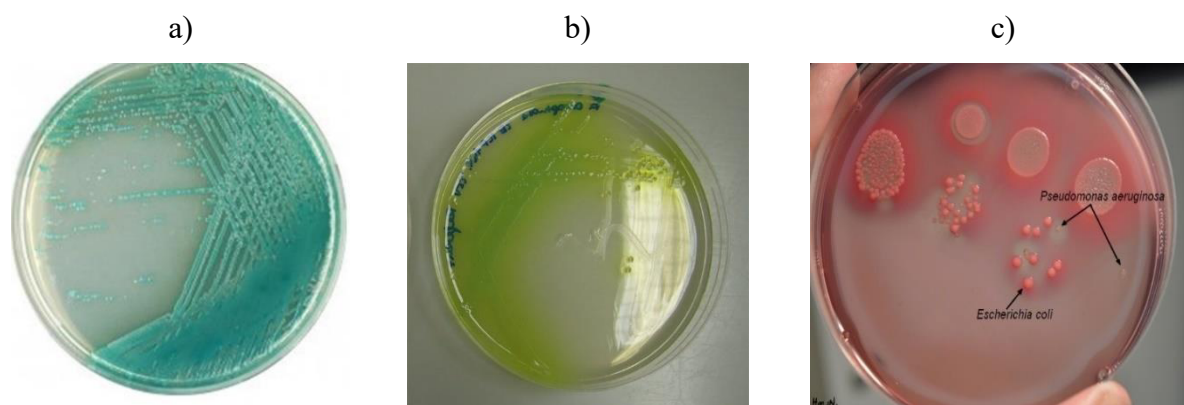


Figura 5. Colonii de *P. aeruginosa* pe mediile: a) MH, b) Cetrimide, c) MacConkey [56]

Factorii de virulență

P. aeruginosa are capacitatea de a produce toxine, una dintre ele fiind exotoxina A ca factor de virulență. Aceasta poate provoca moartea celulei-gazdă pe două căi: inhibând sinteza proteinelor în celulele-gazdă sau asociindu-se cu exoenzima ExoU și distrugând membrana plasmatică a celulelor, cauzând moartea lor [58].

La niveluri scăzute de fosfat, *P. aeruginosa* devine patogenă și eliberează toxine letale în tractul intestinal al gazdei, provocând leziuni grave, uneori soldate cu deces. Acest proces poate fi prevenit furnizând organismului doze de fosfat în locul antibioticelor [59].

P. aeruginosa produce și fenazine – pigmenți redox-activi – care, pe lângă achiziția de fier pentru celula bacteriană, acționează și ca factor de virulență [58].

Un alt factor de virulență este formarea biofilmului, care protejează mecanic și chimic celula *P. aeruginosa* de agresiunea sistemului imun al gazdei și a unor compuși toxici, cum ar fi antibioticele. Matricea biofilmului este compusă din acizi nucleici, aminoacizi, carbohidrați, până la trei tipuri de polimeri (sau „exopolizaharide”), precum și diverși ioni [60,61].

Semnificația clinică

Deși poate face parte din flora intestinală normală, *P. aeruginosa* nu aderă cu ușurință la epiteliul sănătos intact și, de obicei, nu provoacă infecții la persoanele sănătoase. În schimb, la

pacienții imunocompromiși devine un agent patogen oportunist. Datorită adaptabilității și supraviețuirii robuste, poate persista pe suprafețe uscate din mediile spitalicești pentru o perioadă lungă de timp, contaminând echipamentele medicale și diferite suprafețe [62].

P. aeruginosa este al patrulea agent patogen nosocomial cel mai frecvent izolat, responsabil de 10 % din toate IAAM, printre care pneumonia asociată ventilatorului (PAV) și IFS [63].

În SUA, Conform Sistemului național de supraveghere a infecțiilor nosocomiale, *P. aeruginosa* este a doua cea mai frecventă cauză de pneumonie (18,1 %), a treia cea mai frecventă cauză de ITU (16,3 %) și al 8-lea cel mai frecvent patogen izolat în IFS (3,4 %) [64].

P. aeruginosa este rezistentă la multe clase de antibiotice și la agenți terapeutici, ceea ce face dificil tratamentul. Din punct de vedere clinic, prezintă risc în special pentru pacienții cu sistemul imunitar compromis, inclusiv cei cu fibroză chistică (FC), cancer, SIDA, cu dispozitive medicale existente, cu arsuri, leziuni oculare și răni diabetice care nu se vindecă [64].

Acinetobacter baumannii

Primul reprezentant al genului *Acinetobacter* spp. a fost izolat în 1911 din sol de către microbiologul olandez Beijerinck, care l-a numit *Micrococcus calcoaceticus* [65]. În 1968, denumirea *Acinetobacter* a fost acceptată și utilizată pe scară largă după ce Baumann și colab. au publicat un studiu cuprinzător al mai multor specii de microorganisme, concluzionând că toate speciile cercetate aparțin unui singur gen. În 1971, subcomitetul pentru taxonomia genului *Moraxella* și a bacteriilor afiliate a recunoscut oficial genul *Acinetobacter* în baza rezultatelor cercetării lui Baumann din 1968 [65,66].

Clasificarea taxonomică: regnul: *Monera*; filumul: *Proteobacteria*; clasa: *Gammaproteobacteria*; ordinul: *Pseudomonadales*; familia: *Moraxellaceae*; genul: *Acinetobacter*; specia: *Acinetobacter baumannii* [66].

Până în prezent, cu ajutorul metodelor genotipice, au fost identificate 72 specii din genul *Acinetobacter*. Dintre acestea, cele mai relevante din punct de vedere clinic sunt speciile: *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii*, *A. lactucae* și *A. dijkshoorniae*, grupate într-un complex de specii, numit complexul ACB [67,68,69].

Caractere culturale. Speciile din genul *Acinetobacter* cresc bine la 37 °C pe medii solide de rutină, cum ar fi agarul cu sânge de oaie, formând colonii de la 1 până la 2 mm, convexe, mucoide și nepigmentate (figura 6a) [70].

Însă în laboratoarele de diagnostic și în cele clinice sunt utilizate frecvent mediile diferențiale CHROMagar *Acinetobacter* și Leeds *Acinetobacter*, foarte selective, pe primul formând colonii de culoare roșie (figura 6b), iar pe cel din urmă – colonii de tip S, de culoare roză, netede, mucoide (figura 6c) [70].

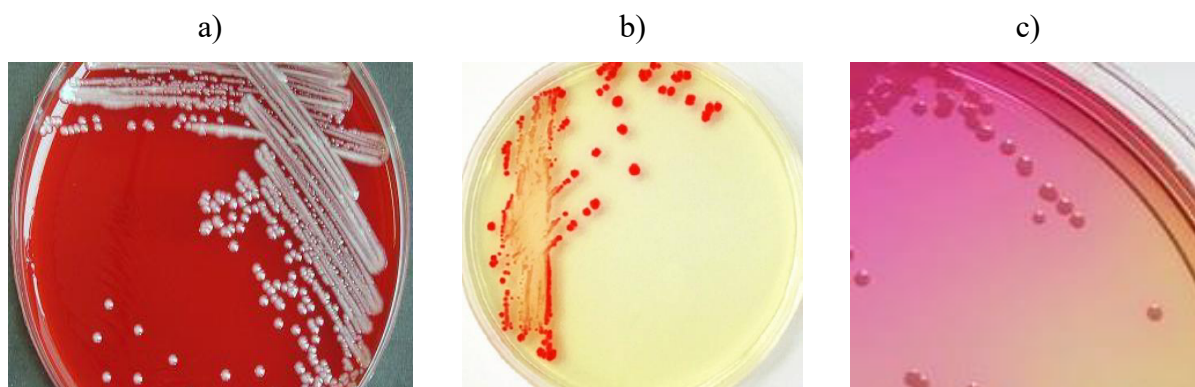


Figura 6. Colonii de *A. baumannii* mediul a) geloză-sânge, b) CHROMagar Acinetobacter și c) Leeds Acinetobacter Medium [70]

Factorii de virulență

Adezinele, CPS, proteinele glicozilate, lipooligozaharidele (LOS) și PG sunt determinanți importanți ai virulenței speciei *A. baumannii*. Cel mai abundent constituent al membranei exterioare a bacteriilor gramnegative este LPS sau, alternativ, LOS. Structura LOS poate suferi modificări pentru a permite *A. baumannii* să reziste la condiții stresante [67,71,72,73].

Proteina membranei exterioare A (OmpA), în calitate de factor de virulență al *A. baumannii*, joacă un rol important în declanșarea infecției bacteriene. În celulele dendritice, OmpA induce apoptoză cu debut precoce și necroză cu debut întârziat. Această proteină poate induce și creșterea biofilmului pe suprafețele abiotice, aderența și invazia celulelor epitelului gazdei printr-un mecanism asemănător fermoarului [67]. Capacitatea de a forma biofilm favorizează colonizarea mucoasei gazdei și creșterea bacteriilor pe suprafețele abiotice, declanșând astfel IAAM și contribuind la supraviețuirea în mediul extern [74].

Semnificația clinică

A. baumannii este aproape exclusiv prezentă în medii spitalicești. Deși ocazional a fost identificată în probe de sol și de apă, habitatul său natural este încă necunoscut. În medicina umană, acest agent patogen oportunist este responsabil atât pentru IAAM, cât și pentru infecțiile comunitare [65].

În anii 1970, *A. baumannii* era sensibilă la majoritatea antibioticelor, în prezent este rezistență la majoritatea antibioticelor de prima linie. Din cauza rezistenței la antibioticele de ultima generație, precum colistina, tigeciclina și carbapenemele, *A. baumannii* se situează printre cei mai problematici agenți patogeni ESKAPE nosocomiali, pentru care OMS a accentuat necesitatea de cercetare și de dezvoltare de noi antibiotice, iar Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC) a emis alertă de amenințare la adresa sănătății publice [66].

Odată ce *A. baumannii* este izolat într-un mediu spitalicesc, acest lucru prezintă un risc semnificativ, în special în secțiile de terapie intensivă, unde pacienții sunt imunocompromiși și

petrec o perioadă prelungită de timp, astfel devenind un grup cu risc sporit de infecție cu această specie. Căile respiratorii, sângele, lichidul pleural, tractul urinar, rănilor chirurgicale, SNC, pielea și ochii sunt principalele situsuri pentru infecție sau colonizare. Pneumonia poate reprezenta o amenințare pentru pacienții care necesită ventilație mecanică ca urmare a capacității *A. baumannii* de a forma biofilme pe suprafața tubului endotraheal [65].

Cele mai frecvente IAAM cu *A. baumannii* la pacienții în stare critică sunt PAV, IFS, infecția plăgilor și meningita nosocomială, în timp ce infecțiile dobândite la nivel comunitar includ în principal pneumonia și infecția plăgilor în situații mai neobișnuite, cum ar fi în timpul unui cutremur sau conflict militar [75].

Rezistența la antibiotice, persistența în mediu, împreună cu imposibilitatea identificării toxinelor care dăunează genomului celulei-gazde, sugerează că potențialul de virulență al *A. baumannii* se bazează pe o strategie de „persistență și rezistență” [66].

1.2. Antimicrobienele. Modul de acțiune

Agent antimicrobian se consideră oricare dintr-o mare varietate de compuși chimici și agenți fizici utilizați pentru a distruge microorganismele sau pentru a preveni dezvoltarea acestora. Antibioticele sunt medicamentele sintetice sau semisintetice, care au revoluționat medicina, permițând tratamentul multor boli cândva extrem de fatale [76,77].

La baza clasificării antibioticelor stau mai multe criterii, cele mai comune sunt structura moleculară, modul de acțiune, spectrul de activitate și calea de administrare (injectabilă, orală și topică) [76,78].

În raport cu **efectul** asupra celulei bacteriene, antimicrobienele sunt clasificate în: bacteriostatice (stopează înmulțirea bacteriilor, de ex., sulfonamidele, tetracilinele și cloramfenicolul) și bactericide (distrug bacteriile, de ex., penicilinele, aminoglicozidele și rifampicina) [76,79]. În funcție de **farmacocinetică**, deosebim trei categorii generale: dependente de concentrație, dependent de timp, dependent de expunere [76,80].

În baza **structurii chimice** sau **moleculare**, se disting următoarele grupe de antimicrobiene: beta-lactamine (peniciline, cefalosporine și carbapeneme), macrolide, tetraciline, chinolone, aminoglicozide, sulfonamide, glicopeptide și oxazolidinone (anexa 1) [81].

Antimicrobienele folosesc următoarele **mecanisme de acțiune**: inhibarea sintezei peretelui celular; defalcarea structurii sau a funcției membranei celulare; inhibarea structurii și a funcției acizilor nucleici; inhibarea sintezei proteinelor; blocarea căilor metabolice (figura 7) [82].

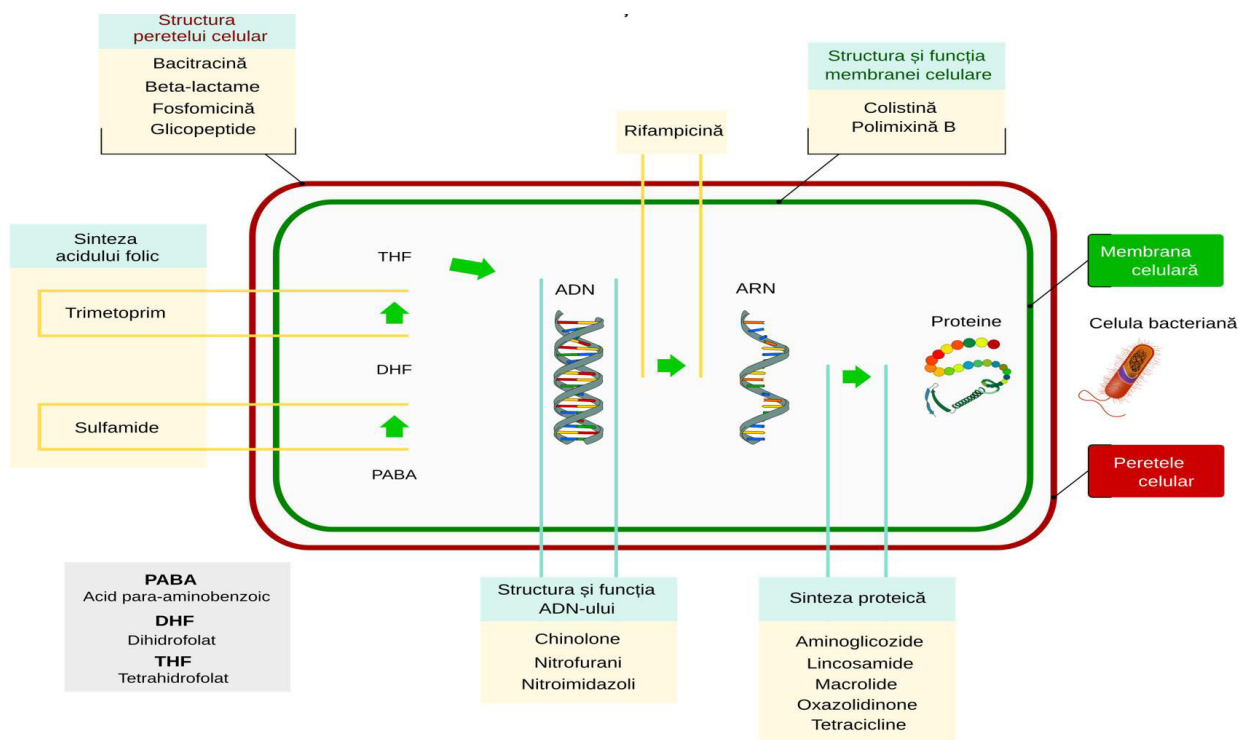


Figura 7. Mecanismele de acțiune ale antibioticelor [82]

Inhibarea sintezei peretelui celular. Majoritatea celulelor bacteriene sunt acoperite de un strat rigid de peptidoglican (PG) care protejează atât celulele de presiunea osmotică predominantă, cât și de condițiile în care ele există. Pentru a rămâne în viață, bacteriile trebuie neapărat să sintetizeze PG cu ajutorul enzimelor transglicozilaze și a transpeptidaze, care adaugă pentapeptide și dizaharide la catena de glican a moleculei de PG existente, făcând-o mai lungă [76].

Penicilinele, carbapenemele și cefalosporinele blochează legarea încrucișată a unităților structurale ale PG prin inhibarea formării legăturii peptidice. Majoritatea glicopeptidelor (ex. vancomicina) blochează sinteza PG prin legarea antibioticului de unitățile acestuia și inactivarea transglicozilazelor și transpeptidazelor [76].

Defalcarea structurii sau funcției membranei celulare. Clasele de antibiotice care deteriorează membranele celulare ale bacteriilor au acțiune specifică în funcție de grupul microbial asupra căruia acționează, ca urmare a diversității tipurilor de lipide din membranele lor celulare. De exemplu, daptomicina depolarizează membrana dependentă de calciu, ceea ce duce la încetarea sintezei macromoleculare și la perturbarea membranei celulare la bacterii. Polimixinele provoacă dezintegrarea membranei celulare bacteriene prin legarea eficientă de fragmentul lipidic al lipopolizaharidei din celula bacteriană [76].

Inhibarea sintezei acizilor nucleici. Antibioticele interferează cu sinteza acizilor nucleici bacterieni prin blocarea replicării sau oprirea transcripției. Replicarea ADN-ului implică derularea structurii tradiționale de dublu helix. Grupul de antibiotice chinolone, de exemplu, interferează cu

funcționalitatea acestei enzime, împiedicând astfel procesul de replicare și de reparare a ADN-ului la bacteriile susceptibile [78].

Inhibarea sintezei proteinelor. Printre multe roluri, proteinele sunt responsabile și pentru compoziția structurală, procesele metabolice și fiziologice, și răspunsul la condițiile adverse. Având în vedere importanța proteinelor în procesele vitale ale tuturor organismelor vii, perturbarea sintezei lor într-o celulă bacteriană i-ar afecta activitatea vitală, provocându-i moartea [76,78].

Blocarea principalelor căi metabolice. Unele antibiotice, precum sulfonamidele și trimetoprimul, imită un substrat necesar pentru metabolismul celular al bacteriilor. Această înșelăciune face ca enzimele bacteriene să se atașeze mai degrabă de antibiotic decât de substratul normal. În special, sulfonamidele acționează ca tetrahidrofolatul care este necesar în celulele bacteriene pentru sinteza acidului folic (vital în metabolismul acidului nucleic și al aminoacizilor). În acest mod, sulfonamidele perturbă, în cele din urmă, producția de ADN, de ARN și de aminoacizi [76].

1.3. Mecanismele de rezistență ale bacililor Gram-negativi

Unele bacterii sunt rezistente în mod natural la anumite tipuri de antibiotice, dar cele mai multe devin rezistente printr-o mutație genetică naturală sau prin dobândirea mutațiilor asociate cu rezistența de la alte bacterii, de exemplu, în timpul conjugării. Tipurile de rezistență ale bacteriilor la antimicrobiene sunt prezentate pe figura 8 [83,84].

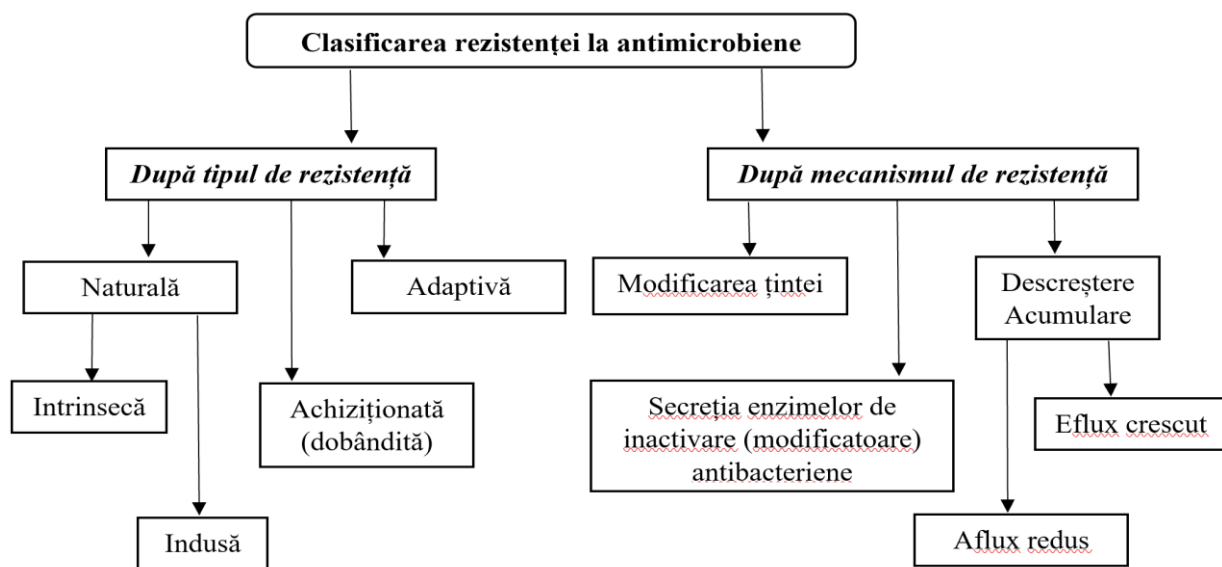


Figura 8. Tipuri de rezistență la preparatele antimicrobiene

Mecanismul rezistenței la antimicrobiene a BGN rezultă din exprimarea enzimelor de inactivare a antibioticelor și a căilor neenzimatică care pot rezulta din creșterea rezistenței intrinseci, datorită mutațiilor în genele cromozomiale (cum ar fi creșterea expresiei enzimelor de inactivare a antibioticelor, pompe de eflux, permeabilitate sau modificări ale țintei) sau dobândite prin transferul orizontal de elemente genetice mobile purtătoare de gene cu mutații asociate cu

rezistența [84,85]. Drept exemplu poate servi codificarea plasmidică a β -lactamazei, enzimelor de modificare a aminoglicozidelor sau mecanismele neenzimatic, precum gena *Qnr* (gena de rezistență la chinolone pe bază de plasmid) pentru rezistența la fluorchinolone a speciilor din familia *Enterobacteriaceae* [85].

Enterobacteriaceae producătoare de BLSE

Răspândirea rapidă a tulpinilor producătoare de BLSE a făcut ca rezistența enterobacteriilor la cefalosporinele de generația a treia (CG3) să constituie în prezent peste 10 %, iar la carbapeneme cca 7 %. Aceste enzime pot hidroliza cefalosporinele cu spectru larg, monobactamele și penicilinele. Beta-lactamazele de clasa A, cum ar fi TEM-1, TEM-2 și SHV-1, sunt responsabile pentru rezistența la ampicilină, la amoxicilină și la cefalosporine de generația întâi. Rezistența la CG3 apare atunci când mutația genelor care codifică TEM-1, TEM-2 sau SHV-1 dă naștere la noi β -lactamaze care le pot hidroliza [84].

Enterobacteriaceele pot exprima și alte tipuri de BLSE, precum CTX-Munich (CTX-M), care hidrolizează cefotaxima mai eficient decât ceftazidima, și oxacilinazele (OXA), care hidrolizează carbapenemele (se găsesc în principal la *P. aeruginosa* și mai rar la enterobacteriacee). În plus, β -lactamazele de tip AmpC pot să hidrolizeze CG3 și sunt rezistente la acidul clavulanic și la alți inhibitori de β -lactamaze [84].

Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze

Rata de rezistență la carbapeneme a *K. pneumonia* este de peste 25 %, a *P. aeruginosa* variază de la 20 până la 40 %, iar a *A. baumannii* – de la 40 până la 60 % [86].

Primele izolate rezistente la carbapeneme au fost raportate în anii 1990, rezistența fiind determinată de producția de β -lactamaze de tip AmpC și de pierderea proteinei membranei exterioare. Există două tipuri de enterobacteriacee rezistente la carbapeneme (CRE): producătoare de carbapenemază, în care genele responsabile de sinteza enzimei sunt prezente pe elemente genetice mobile și CRE neproducătoare de carbapenemază [86].

În prezent sunt cunoscute cinci carbapenemaze majore: 1) KPC, carbapenemază de clasa A (β -lactamaze pe bază de serină); 2) clasa B, New Delhi Metallo- β -lactamaze (NDM); 3) Verona integrin Metallo - β -lactamaza (VIM); 4) clasa D, OXA sau OXA-48 și 5) IMP, activ pe imipenem (tabelul 1) [86].

Mecanismele de rezistență ale A. baumannii

Specia *A. baumannii* este asociată cu IAAM la nivel mondial și dezvoltă rapid rezistență la antimicrobiene prin diferite mecanisme [87].

Inactivarea β -lactamelor de către β -lactamaze este considerată un mecanism major de rezistență la *A. baumannii* MDR. Toate cele patru clase de β -lactamaze (A, B, C și D) au fost

identificate la specia *A. baumannii*, care poate încorpora în genomul său ADN exogen și identifica un număr mare de β -lactamaze [86,87]. MBL din clasa B se disting prin activitate carbapenemazică puternică și conferă rezistență la toate antibioticele β -lactamice, cu excepția monobactamelor. Beta-lactamazele din clasa C asigură rezistența la cefamicină, la peniciline și la cefalosporine. Clasa D pot hidroliza cefalosporinele și carbapenemele cu spectru extins (tabelul 1) [87].

Tabelul 1. Diversitatea moleculară a BLSE și a carbapenemazelor [87]

Clasificarea Ambler	Enzimele	Substratul distinctiv	Caracteristica
C (cefalosporinaze)	AmpC, CMY-1, GC1, CMY-10, CMY-19, CMY-37, ACT-1, FOX-1, MIR-1	Cefalosporine, Cefotaxim, oximino- β -lactame ESAC	Rezistență la acid clavulanic și tazobactam
A (serin- β -lactamaze)	PC1, TEM-1, TEM-2, TEM-3, TEM-30, TEM-50, SHV-1, SHV-2, SHV-10, CTX-M-15, PER-1, VEB-1, PSE-1, CARB-3, RTG-4, CepA, KPC-2, IMI-1, SME-1	Peniciline, cefalosporine empirice, ESCP, monobactame, carbenicilină, cefepim, carbapeneme, oximino- β -lactame, cefamicine	Sensibilitate la carbapeneme, Rezistență sau inhibat de acid clavulanic, sulbactam, tazobactam, Variabilă la acid clavulanic, tazobactam
D (oxacilinaze)	OXA-1, OXA-10, OXA-11, OXA-15, OXA-23, OXA-48	Cloxacilină, ESCP, oximino- β -lactame, oxacilină, carbapeneme	Variabilă la acid clavulanic, tazobactam.
B (metalo- β -lactamaze)	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1, L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1, CphA, Sfh-1	Carbapeneme	Rezistență la acid clavulanic, sulbactam și tazobactam Inhibat de monobactame

Un alt mecanism de rezistență al *A. baumannii* este asigurat de pompele de eflux care asigură rezistență la mai multe clase de antibiotice, inclusiv la tigeciclină sau imipenem [87].

Rezistența *A. baumannii* la aminoglicozide este mediată de trei clase de enzime: acetiltransferaze, adeniltransferaze și fosfotransferaze. Aceste enzime modifică chimic aminoglicozidele [87].

Modificarea permeabilității învelișului celulei bacteriene este un alt mecanism de dobândire a rezistenței. Reducerea expresiei unor porine (care permit transportul transmembranar), precum

Caro, Omp22-33, este asociată cu rezistența la carbapeneme, iar pierderea LPS crește rezistența la colistină a *A. baumannii* ca urmare a scăderii integrității membranei [87].

Alterarea situsurilor-țintă, precum proteinele de legare a penicilinei (PBP), mutațiile ADN-girazei ș.a., modifică ținta pentru antibiotice. Supraexprimarea anumitor PBP are ca rezultat rezistența la imipenem, iar mutația ADN-girazei – rezistență la chinolone și la tetraciclone [87].

Carbapenemele precum imipenemul, meropenemul și doripenemul au fost cei mai buni agenți de tratare a infecțiilor determinate de *A. baumannii*, dar din cauza susceptibilității scăzute la acești agenți, minociclina/tigeciclina și polimixinele au devenit cele mai eficiente și au demonstrat un efect sinergic împotriva infecțiilor cu *A. baumannii* [88]. Cu părere de rău, au apărut deja tulpini de *A. baumannii* rezistente la tigeciclină și la colistină. Terapia combinată cu ampicilină-sulbactam și ampicilină + sulbactam + carbapenem este eficientă pentru tratarea bacteriemiei determinată de *A. baumannii* MDR. Terapia cu minociclone are, de asemenea, rate mari de succes și tolerabilitate bună, dar aproximativ 20 % din tulpinile de *A. baumannii* deja au dezvoltat rezistență. Minociclina combinată cu colistină este eficientă pentru tratarea infecțiilor cu *A. baumannii* rezistent la minociclină, iar colistina + rifampină este cel mai eficient tratament pentru tulpinile rezistente la colistină [87,88].

Mecanismele de rezistență ale P. aeruginosa

Multe mecanisme pot contribui la rezistența *P. aeruginosa* la antibiotice: rezistența înăscută, precum supraexprimarea pompelor de eflux și scăderea permeabilității membranei exterioare; rezistența dobândită, cum ar fi achiziționarea de gene care codifică pentru enzime de rezistență sau mutația în genele care codifică porinele și alte proteine [87].

Există patru clase majore de β -lactamaze identificate la *P. aeruginosa*: clasele A, C și D inactivează β -lactamele prin activitatea catalitică a reziduului de serină, în timp ce β -lactamazele de clasa B sau MBL au nevoie de cationi de zinc pentru ași exercita acțiunea [87].

β -lactamazele endogene, cum ar fi AmpC, pot fi induse de mai multe β -lactame, printre care benzilpenicilina și imipenemul. *P. aeruginosa* poate dobândi rezistență printr-o mutație a genei care duce la supraexprimarea β -lactamazei AmpC [87].

Rezistența *P. aeruginosa* la aminoglicozide este mediată de enzimele de modificare a aminoglicozidelor, care sunt împărțite în trei clase: aminoglicozide fosforiltransferaze, aminoglicozide adenililtransferaze și aminoglicozide acetiltransferaze, aminoglicozide care se atașează ca radicali adenil sau acetil la molecula de antibiotic și scad afinitatea de legare la ținta lor în celula bacteriană [87].

Rezistența la chinolone este dezvoltată prin mutația genei cromozomiale bacteriene care codifică ADN-giraza sau topoizomeraza 1V, sau prin transportul activ al antibioticului în afara celulei [87].

Colistina s-a dovedit a fi mai eficientă în tratarea infecției cu *P. aeruginosa* MDR decât alte medicamente β -lactamice, eficiența crescând la combinarea cu imipenem, piperacilină, aztreonam, ceftazidimă sau ciprofloxacină. Terapia cu fosfomicină + aminoglicozide, cefalosporine și peniciline a arătat rezultate mai bune pentru tratamentul infecțiilor cauzate de *P. aeruginosa* rezistentă la antimicrobiene [87].

1.4. Aspecte epidemiologice: distribuție, factori de risc și căi de transmitere a microorganismelor rezistente la antibiotic

Potrivit raportului global al OMS privind sistemul de supraveghere a RAM în 2022, printre principalii responsabili ai cazurilor de deces asociate cu BGN rezistenți sunt: *E. coli* rezistentă la CG3 și fluorchinolone, urmată de *K. pneumoniae* – rezistentă la carbapeneme, *A. baumannii* – rezistentă la carbapeneme și *P. aeruginosa* – rezistentă la β -lactamine, aminoglicozide și fluorchinolone [89,90,91].

După un deceniu de creștere constantă, în prezent 76 de țări raportează rate de rezistență de 42 % la CG3 pentru *E. coli* care, în anumite situații, pot ajunge la 70 %. Această situație rezultă în principal din răspândirea rapidă a tulpinilor producătoare de BLSE, care reprezintă 15-25 % din enterobacteriile izolate de la pacienții critici [92,93].

Mult mai îngrijorătoare este diseminarea în continuare a CRE, cu o prevalență globală de 2-7 % în ITU din Europa, Asia și Statele Unite [93]. Această situație pare deosebit de critică pentru *K. pneumoniae*, cu rate de rezistență la carbapenem de peste 25 % în mai multe țări din sudul Europei, precum Italia sau Grecia [94].

Ratele actuale de rezistență la ceftazidimă și la carbapeneme a *P. aeruginosa* variază de la 20 până la 40 %. MDR (rezistența la cel puțin trei clase de antimicrobiene dintre următoarele: piperacilină-tazobactam, ceftazidimă, fluorochinolone, aminoglicozide și carbapeneme) și XDR (rezistența la cele cinci clase de antibiotice menționate mai sus) au reprezentat 23 și, respectiv, 14 % din izolatele de *P. aeruginosa* raportate de către CDC în 2020 [94].

Ratele de rezistență sunt în creștere și la *A. baumannii*. Statisticile arată că de la 60 până la 80 % din izolatele responsabile de infecțiile dobândite în secțiile de terapie intensivă sunt rezistente la carbapenem [95].

Bacteriile producătoare de carbapenemaze s-au răspândit în întreaga lume (figura 9). Astfel, KPC predomină în China, în Statele Unite ale Americii, în Italia și în majoritatea regiunilor din America de Sud; NDM sunt răspândite pe scară largă în întreaga lume, predominând în China, în

Pakistan, în India și în Bangladesh; IMP prevalează în Japonia, Taiwan și în China; VIM-urile – în Grecia; OXA-48 – în Turcia, Maroc și în unele țări europene, precum: Franța, Germania, Țările de Jos, Italia, Regatul Unit ș.a. [96,97].

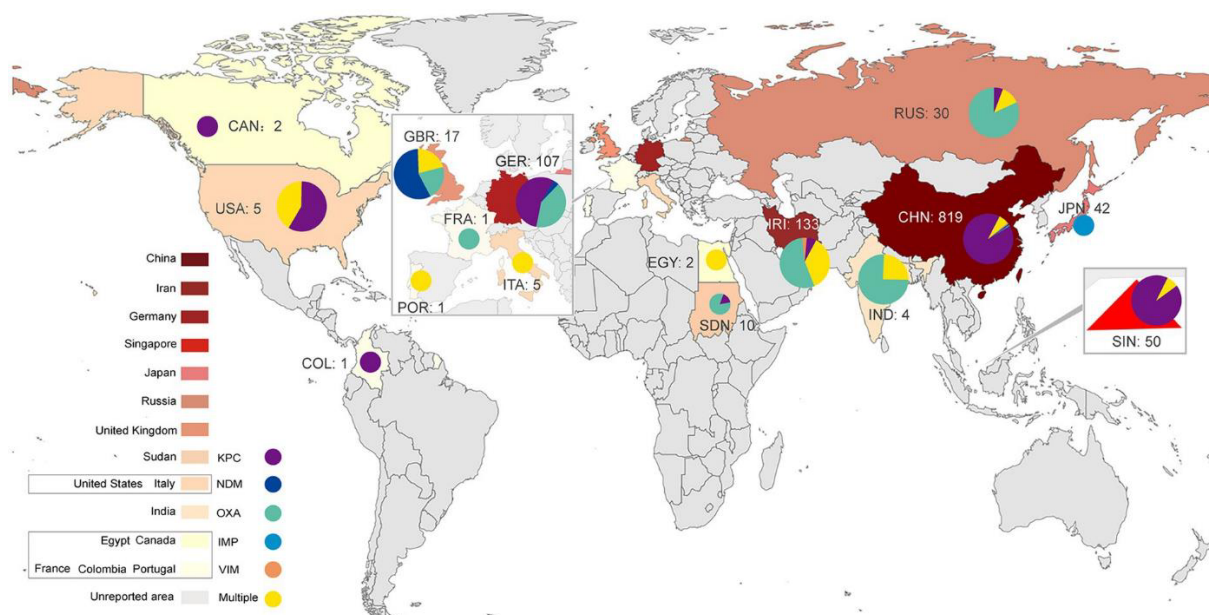


Figura 9. Distribuția globală a diferitor tipuri de carbapenemaze [96]

Factori de risc în dezvoltarea rezistenței antimicrobiene

Studii recente au scos în evidență cei mai importanți factori de risc pentru contractarea unei infecții determinate de patogeni rezistenți la antimicrobiene. Caracteristicile demografice, care includ vârsta înaintată, genul masculin, mediul de migrație și viața într-un mediu urban, sunt unii din acești factori. Situația socială a populației, care determină variații în consumul antibioticelor, precum și accesul la antibiotice la nivel individual, de asemenea contribuie la dezvoltarea rezistenței la antibiotice [98,99].

Starea de sănătate a pacienților joacă un rol crucial în dezvoltarea infecțiilor cu patogeni rezistenți, rezultatele anormale ale testelor de laborator, bolile de bază și starea avansată a bolii servind frecvent drept factori de risc [98].

Riscul de dezvoltare a infecțiilor determinate de microorganisme rezistente crește în instituțiile spitalicești, mai ales în secțiile de terapie intensivă [90].

Dintre procedurile invazive, ca factori de risc semnificativ de răspândire a rezistenței antimicrobiene cel mai frecvent au fost raportate cele care vizează sistemul respirator [90].

Consumul de antimicrobiene joacă un rol major în dezvoltarea RAM. În multe cazuri, utilizarea pe scară largă a antibioticelor, neargumentată, amenință eficacitatea acestora [98,100].

Datele Centrului European de Supraveghere a Consumului de Antibiotice au arătat o corelație direct proporțională între nivelul de consum al antimicrobienelelor și rata RAM [91].

Conform atlasului elaborat de Centrul European de Prevenire și Control al bolilor (ECDC), cele mai mici rate de RAM se atestă în țările nordice precum Danemarca –10,7 %, Islanda – 10,2 %, Finlanda – 9,9 %, iar rate mai înalte de rezistență se înregistrează în Cipru - 46,4 %, Bulgaria cu 40,6 %, Grecia - 37,8 % și România – 28,3 % [91,96].

Importanța majoră acordată BGN derivă din capacitatea lor ridicată de transmitere între oameni, animale și mediul înconjurător, prin multiple căi influențate de factori precum igiena precară, supravegherea insuficientă a infecțiilor, contactul direct sau indirect cu suprafețe contaminate, consumul de alimente contaminate în timpul procesării sau sacrificării animalelor, utilizarea apei contaminate [91,101].

1.5. Metode de diagnostic de laborator a bacililor Gram-negativi multirezistenți

Diagnosticul de laborator al infecțiilor determinate de microorganisme rezistente este esențial în salvarea pacientului. Necesitatea detectării BGN rezistenți la β -lactamine este legată, în primul rând, de severitatea infecțiilor care le provoacă, la care se adaugă potențialul rapid de răspândire în rândul populației [102,103].

În baza antibiogramei efectuate pentru orice tulpină, rezistența crescută la β -lactamine reprezintă un screening pentru verificarea ulterioară a mecanismelor de rezistență. Importanța sau necesitatea determinării acestor mecanisme are atât un scop epidemiologic, cât și therapeutic în alegerea alternativelor de tratament în funcție de mecanismul de rezistență detectat [104].

Abordări convenționale pentru testarea sensibilității antimicrobiene (TSA)

Izolarea microorganismelor și testarea susceptibilitate la antimicrobiene (TSA) pot necesita între 24 de ore și o săptămână, metodele convenționale bazate pe diluția în bulion sau agar fiind considerate standardul de aur, deoarece permit evaluarea creșterii bacteriene după incubarea în prezența unor concentrații antimicrobiene seriate [105].

Pe lângă acestea, sunt utilizate tehnici precum testul disc-difuzimetric Kirby–Bauer și testul epsilometru (E-test), care măsoară susceptibilitatea prin determinarea zonelor de inhibiție sau a concentrației minime inhibitorii, interpretarea rezultatelor realizându-se conform ghidurilor *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [105], *United States Food and Drug Administration* și *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) [103,106,107].

În ultimii ani, dezvoltarea accelerată a rezistenței antimicrobiene a stimulat apariția unor tehnologii fenotipice și genotipice rapide, bazate pe microfluidică, analiză morfocinetică, fluorescență sau citometrie în flux, completate de metode moleculare avansate pentru detectarea mecanismelor de rezistență (anexa 2) [105,108,109].

Metode avansate de detectare a mecanismelor de rezistență

Detectarea modernă a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene se bazează din ce în ce mai mult pe tehnici moleculare și genomice, care permit identificarea rapidă și specifică a genelor asociate RAM, chiar și înainte ca fenotipul să devină evident [103,106,109,110].

Reacția de polimerizare în lanț (PCR) este o metodă sensibilă și specifică, care permite detectarea rapidă și simultană a mai multor gene sau mutații specifice asociate cu RAM, fiind frecvent utilizate în identificarea carbapenemazelor, precum KPC, NDM, OXA-48 etc. Principiul PCR este similar cu cel al replicării ADN-ului natural în celule, în care fiecare dintre cele două catene complementare de ADN poate acționa ca un șablon pentru sinteza unei noi catene. [111,112].

PCR cantitativă poate fi utilizată pentru a cuantifica încărcătura patogenului la un individ infectat prin încorporarea unui colorant fluorescent în segmentele de ADN amplificate și măsurarea semnalului fluorescent care rezultă [97,113]. Principalul avantaj al PCR cantitativ pentru detectarea mutațiilor asociate cu rezistența este rapiditatea, deoarece poate monitoriza amplificarea ADN-ului în timp real și nu necesită electroforeză [114,115].

Tehnica de secvențiere genomică este standardul modern și metoda revoluționară pentru supraveghere genomică în RAM, care permite identificarea și analiza completă a genomului bacterian, identificând setul total de gene RAM, incluzând variante plasmidice, mutații cromozomiale și factori de virulență. Pe lângă diagnostic, rezultatele secvențierii oferă informații valoroase pentru identificarea relațiilor dintre tulpini, trasabilitate și transmitere [110,116].

Secvențierea genomică a deschis o nouă paradigmă în supravegherea RAM, trecând „dincolo de antibiogramă” către modele predictive bazate pe arhitectura genetică a agentului patogen, transformând în mod semnificativ modul în care sunt înțelese mecanismele de rezistență antimicrobiană. Pe lângă rezistența la antibiotice existentă, putem vorbi și despre capacitatea de a **anticipa evoluții viitoare** prin analiză comparativă, filogenetică și genomică funcțională [6,117].

În primul rând, fiecare izolat bacterian poate fi transformat într-un set complet de informații genetice privind determinanții genetici implicați în rezistență – gene cromozomiale, mutații punctuale, elemente mobile, plasmide, integroni sau transpozoni. Se începe cu obținerea unei secvențe de înaltă calitate, urmată de analiză bioinformatică, prin corelarea cu baze de date curate și standardizate, dedicate RAM și cu metadate epidemiologice. În acest fel sunt digital sunt detectate tiparele de apariție, fixare și transmitere a determinantelor genetice (fie gene, fie substituții în gene cromozomiale care modifică țintele antibioticelor) între tulpini, populații bacteriene și contexte geografice [118,119,120].

În al doilea rând, secvențierea longitudinală și analiza filogenetică permit urmărirea emergenței mutațiilor critice și a transferului orizontal de gene, evidențiind trasee potențiale de evoluție. Modelele computaționale pot ulterior să estimeze probabilitatea ca anumite mecanisme să se extindă la nivel populațional, în funcție de presiunea selecției antimicrobiene și de conexiunile epidemiologice [6].

În final, predicția evoluției rezistenței prin genom se transformă într-un instrument strategic pentru sănătate publică: oferă capacitatea de a identifica punctele „de inflexiune” înainte ca fenotipul clinic să devină dominant, permițând generarea timpurie de avertizări, prioritizarea intervențiilor și calibrarea stewardship-ului. Astfel, genomica nu doar descrie prezentul rezistenței; ea devine instrument de anticipare a viitorului [6].

O altă tehnică avansată de analiză genetică este **secvențierea metagenomică** (sau metagenomica bazată pe secvențiere), care permite identificarea și caracterizarea microorganismelor direct din probe complexe, fără a fi necesară izolarea și cultivarea lor în laborator. Această tehnică a devenit esențială în microbiologie, epidemiologie moleculară și supravegherea rezistenței antimicrobiene [121,122].

Principiul metodei se bazează pe secvențierea întregului material genetic (ADN/ARN) extras direct dintr-o probă biologică (sânge, spută, fecale, probe de mediu, etc.). ADN-ul total (metagenomul) este fragmentat și secvențiat folosind platforme de “*next-generation sequencing*” (NGS). Ulterior, datele obținute sunt analizate bioinformatic pentru a identifica: speciile bacteriene, mutațiile asociate cu rezistența, plasmidele și elementele mobile de rezistență [121].

Alte metode moderne disponibile în prezent sunt: tehnica moleculară **Microarrays**, care efectuează screening simultan de mare capacitate a unor secvențe genetice specifice, bazată pe hibridarea dintre ADN-ul din eșantion și un set de oligonucleotide fixate pe o suprafață solidă (de obicei sticlă sau silicon) [6,123]; **Spectrometria de masă cu desorbție a energiei laser asistată de matrice** (MALDI-TOF MS), care poate detecta anumite mecanisme prin patternuri proteice specifice sau prin teste funcționale (ex. detecția carbapenemazelor) [6,97]. Fiecare metodă are avantajele și limitările ei, care pot fi urmărite în anexa 2.

Pe măsură ce tehnologiile avansează și devin mai accesibile, este posibil ca metodele rapide de screening a rezistenței la antibiotice să devină componente mai importante ale viitoarelor protocoale de diagnosticare pentru tiparea BGN și a altor agenți patogeni care cauzează sepsis și alte infecții [6]. Perspective promițătoare se prevăd și în dezvoltarea testelor colorimetrice, unde este posibil ca plăcile cu microgodeuri incluse, preacoperite cu antibiotice, să fie citite folosind dispozitive bazate pe smartphone. Această abordare este atractivă, fiind ieftină și ușor de utilizat în apropierea pacientului [118,124,125].

1.6. Concluzii la capitolul 1

1. Structura membranei externe, care protejează bacteriile de acțiunea antibioticelor și a dezinfectanților, și prezența în spațiul periplasmatic al acestora a enzimelor de rezistență, care descompun sau modifică antibioticele, sunt unele din particularitățile BGN ce contribuie la dezvoltarea rezistenței lor la tot mai multe antibiotice. Gravitatea infecțiilor cauzate de BGN MDR este accentuată de IAAM pe care le determină.

2. În prezent, antibioticele utilizate în mod obișnuit pentru tratarea infecțiilor determinate de BGN din grupul penicilinelor, cefalosporinelor, monobactamelor, aminoglicozidelor, fluorchinolonelor, macrolidelor, cloramfenicoliilor și carbapenemelor trebuie combinate între ele pentru a combate acțiunea enzimelor de rezistență ale acestor patogeni.

3. BGN, pe lângă rezistența intrinsecă, își întăresc activ potențialul antimicrobian prin transfer orizontal reciproc de gene care codifică pentru enzime de rezistență. Cele mai răspândite mecanisme de rezistență, inclusiv la BGN, sunt enzimele de rezistență din grupul BLSE și al carbapenemazelor.

4. La dezvoltarea rezistenței antimicrobiene contribuie utilizarea irațională a acestora, modalitatea rapidă de răspândire a speciilor rezistente în întreaga lume, precum și simplitatea transmiterii mecanismelor de rezistență printre specii. Înțelegerea acestor particularități ale dezvoltării RAM este esențială pentru elaborarea de strategii de control a acestui fenomen la nivel local, regional și global.

5. Eterogenitatea sporită a BGN complică identificarea lor și instituirea unei terapii adecvate, în contextul în care acestea au devenit rezistente la majoritatea grupelor de preparate antimicrobiene, pentru unele, precum *A. baumannii* și *P. aeruginosa*, fiind necesare urgent de noi antibiotice.

6. Asocierea mai multor tipuri de enzime de rezistență la aceeași tulpină face dificilă identificarea corectă a unora dintre ele, precum și terapia infecțiilor cu acești patogeni, în pofida creșterii sensibilității și a specificității testelor, extinderii spectrului de enzime detectabile, reducerii timpului de testare etc.

7. Problema RAM rămâne alarmantă și impune dezvoltarea de noi strategii axate pe înlăturarea cauzelor, împiedicarea răspândirii și diagnosticarea corectă și rapidă a tuturor mecanismelor de rezistență ale bacteriilor.

2. MATERIAL ȘI METODE UTILIZATE ÎN CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a studiului

A fost realizat un studiu integral pe tulpini de BGN colectate în perioada anilor 2020-2023. Cercetările au fost efectuate în Laboratorul Microbiologic al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică, în colaborare cu Centrul de epidemiologie genomică al Universității Tehnice din Danemarca (Acord de colaborare nr. 1 din 24.04.2023). Investigațiile au fost efectuate *in vitro* pe tulpini de BGN suspecte, trimise spre confirmarea mecanismelor de rezistență în Laboratorul Național de Referință, de către toate laboratoarele din cadrul Sistemului Național de Supraveghere Epidemiologică a RAM (24 de laboratoare, inclusiv zece laboratoare teritoriale ale ANSP, zece laboratoare ale instituțiilor medico-sanitare publice și patru laboratoare private).

Obiectul de studiu: tulpini de BGN izolați din sânge, LCR și urină.

După identificarea și testarea sensibilității la antimicrobiene, tulpinile au fost expediate pentru confirmare la Laboratorul Național de Referință. Datele obținute au fost introduse în baze de date Excel conform fișei de însoțire a tulpinii izolate de către laboratoarele microbiologice și în conformitate cu criteriile stabilite de protocoalele internaționale. În urma verificării corectitudinii și completitudinii setului de variabile și excluderea dublărilor au fost selectate spre cercetare 3003 tulpini de BGN rezistente la cel puțin un preparat din grupul beta-lactamine.

CRITERII DE INCLUDERE:

- tulpini de *E. coli* rezistente la unul sau la mai multe preparate β -lactamine izolate din sânge, LCR, urină de la pacienți cu maladii acute;
- tulpini de *K. pneumoniae* rezistente la unul sau la mai multe preparate β -lactamine izolate din sânge, LCR, urină de la pacienți cu maladii acute;
- tulpini de *A. baumannii* rezistente la unul sau mai multe preparate β -lactamine izolate din sânge, LCR, urină de la pacienți cu maladii acute;
- tulpini de *P. aeruginosa* rezistente la unul sau la mai multe preparate β -lactamine izolate din sânge, LCR, urină de la pacienți cu maladii acute.

CRITERIU DE EXCLUDERE

- tulpini de microorganisme grampozitive izolate de la pacienți cu maladii acute;
- tulpini de BGN sensibili la toate grupele de preparate antimicrobie izolate de la pacienți cu maladii acute;
- tulpini de BGN izolate din alte biosubstraturi decât sânge, LCR și urină de la pacienți cu maladii acute.

Pentru realizarea obiectivelor stabilite și atingerea scopului cercetările au fost efectuate în câteva etape (figura 10), descrise în continuare.

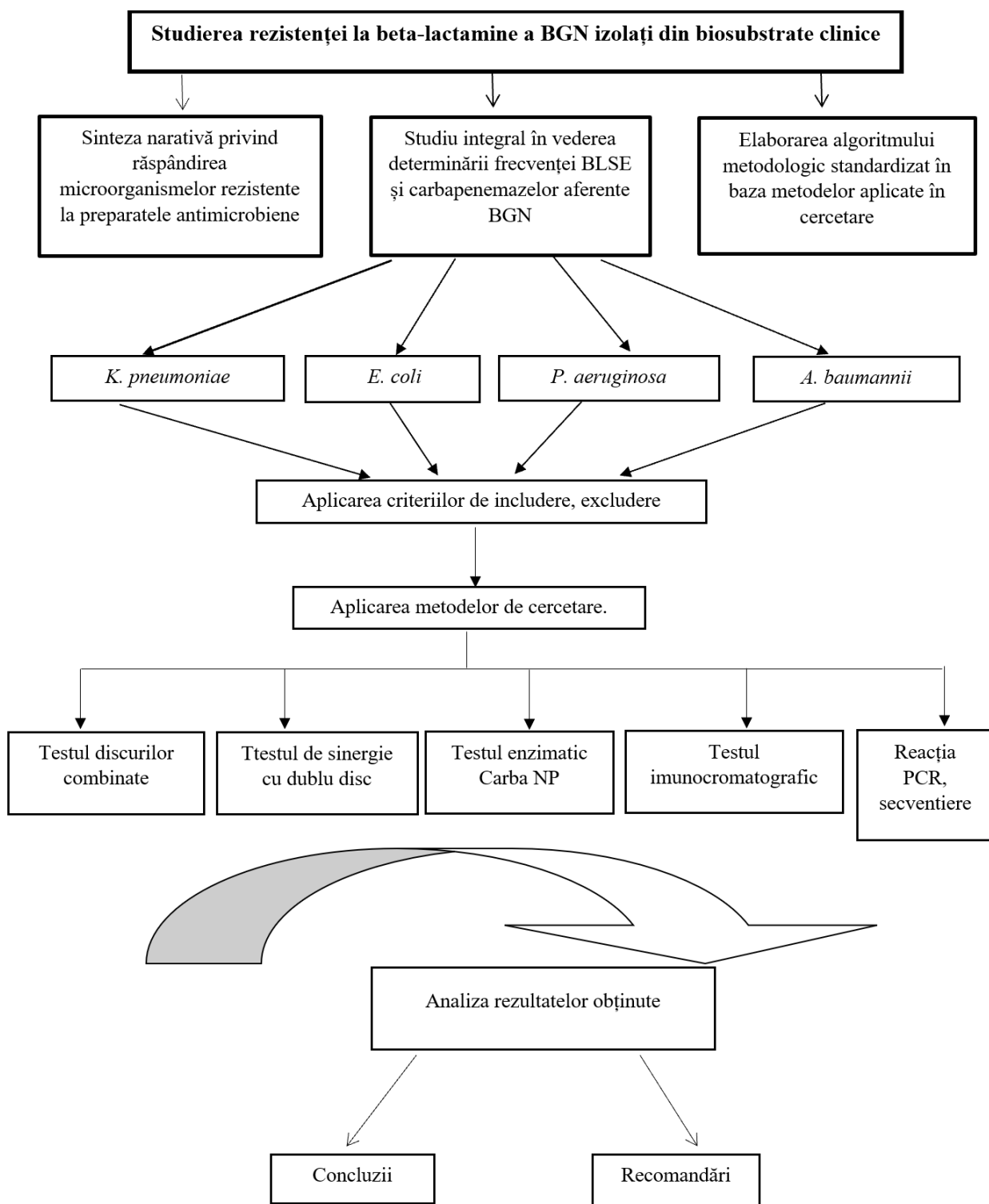


Figura 10. Design-ul studiului

Prima etapă a studiului a constat în analiza a 480 surse bibliografice ce țin de RAM a BGN prin intermediul motoarelor electronice de căutare MEDLINE, PubMed, HINARI, precum și interfața web, cu selectarea și listarea în compartimentul Bibliografie a celor mai relevante surse pentru tema de cercetare, din ultimii zece ani. Un accent deosebit a fost pus pe studierea surselor

bibliografice naționale cu referire la metodele de detectare a mecanismelor de rezistență și la situația epidemiologică prin RAM în țară.

În *etapa a doua* a fost stabilit obiectul de studiu și selectate tulpinile rezistente la cel puțin un preparat din grupul betalactamine, cu studierea și selectarea metodologiei adecvate în realizarea obiectivelor trasate, realizarea investigațiilor microbiologice. Tot la această etapă a fost creată baza de date cu prelucrarea statistică a acestora, analiza și descrierea rezultatelor obținute, cu interpretarea indicatorilor statistici calculați pentru variabilele incluse, compararea rezultatelor cu cele ale cercetărilor similare efectuate la nivel internațional. La final au fost trasate cinci concluzii, care demonstrează realizarea completă a obiectivelor și atingerea scopului propus, fiind propuse și un set de recomandări în vederea combaterii fenomenului RAM.

La *etapa a treia* s-a realizat diseminarea rezultatelor prin diverse lucrări, inclusiv articole în reviste științifice naționale și internaționale, teze și participări active cu prezentare sau poster la foruri științifice naționale și internaționale, un ghid, o indicație metodică, o broșură.

2.2. Metodele de cercetare

Studiul BGN rezistenți la beta-lactamine a fost unul integral. Pentru realizarea lui au fost aplicate metode: analitico-descriptive – pentru sinteza surselor bibliografice; analitice – în procesul de analiză a diferitor metode de determinare a mecanismelor de rezistență; microbiologice – în scopul detectării mecanismelor de rezistență la tulpinile cercetate; epidemiologice – pentru stabilirea prevalenței grupelor filogenetice de BGN, precum și a enzimelor de rezistență detectate la acești patogeni; statistice – la prelucrarea și analiza statistică a datelor obținute în cadrul cercetărilor.

Metoda microbiologică

Detectarea și caracterizarea rezistenței la beta-lactamine a tulpinilor de BGN s-a efectuat prin investigări microbiologice cu aplicarea metodelor clasice și a metodelor molecular-genetice contemporane.

Prima etapă a investigațiilor a inclus verificarea purității culturii și reidentificarea tulpinilor de BGN. Tulpina a fost reinoculată pe mediile de cultură geloză-sânge (HiMedia), Endo (Liofilchem) de unde, peste 24 de ore de incubare, s-au izolat coloniile potențial patogene. Din colonii pure izolate s-a pregătit suspensia (0,5 conform McFarland) pentru identificarea ulterioară a speciei de microorganisme cu ajutorul sistemului automat Vitek MS.

Testarea sensibilității la antimicrobiene. După identificare, tulpina a fost testată la preparatele antimicrobiene din grupul penicilinelor, cefalosporinelor, carbapenemelor, fluorchinolonelor, aminoglicozidelor prin metoda disc-difuzimetrică Kirby Bauer și metoda automatizată cu ajutorul sistemului automat Vitek-2 compact, conform standardului EUCAST.

Determinarea sensibilității la antimicrobiene prin metoda Kirby Bauer (difuzimetrică). Din tulpina cercetată s-a preparat din nou un inocul standardizat corespunzător etalonului 0,5 Mac Farland care s-a inoculat pe placa cu MH (Liofilchem). Acest mediu este mai indicat, deoarece are o valoare nutritivă optimă și permite creșterea și dezvoltarea diferitor microorganisme fără vre-un adaos de substanțe care pot inhiba acțiunea antibioticului. Concentrația agarului din componența mediului constituie 1,5-1,7 %, pH-ul mediului – 7,2-7,4, iar grosimea stratului de agar în placă – 4 mm.

După inocularea pe placă, au fost aplicate discuri impregnate cu antibiotice. În jurul lor se formează un gradient de concentrație prin difuziunea locală a antibioticului. Mai aproape de disc, concentrația de antibiotic este mai mare, iar cu îndepărtarea de la disc concentrația scade.

Plăcile au fost incubate în termostat la temperatura de 36 °C pentru 18-48 de ore (în mediu 24 de ore). După incubare, pe placă se observă două zone distincte: zona de inhibiție a creșterii bacteriilor în apropierea discului și zona de creștere a bacteriilor care își mărește dimensiunile odată cu scăderea concentrației antibioticului în urma difuziunii acestuia în mediu sau a lipsei. Cu ajutorul unei rigle, au fost măsurate diametrul zonelor de inhibiție totală a creșterii bacteriene și comparate cu valorile de referință: sensibil (S), sensibil la doze înalte (SSD), rezistent (R) indicate în standardul EUCAST (v.13.1, 2023).

Pentru testarea sensibilității tulpinilor izolate din biosubstraturile clinice a fost utilizat setul de preparate antimicrobiene (Mast Group) care a inclus: pentru *E. coli* și *K. pneumoniae* - ampicilină (10μg), amoxicilină-acid clavulanic (20-10μg), piperacilină-tazobactam (30-6μg), cefepim (30μg), cefotaximă (5μg), cefoxitină (30μg), ceftazidimă (10μg), ceftriaxonă (30μg), ertapenem (10μg), imipenem (10μg), meropenem (10μg), ciprofloxacina (5μg), levofloxacina (5μg), ofloxacina (5μg), amikacina (30μg), gentamicina (10μg), tobramicina (10μg); pentru *A. baumannii* - imipenem (10μg), meropenem (10μg), ertapenem (10μg), ciprofloxacina (5μg), levofloxacina (5μg), amikacina (30μg), gentamicina (10μg), tobramicina (10μg); pentru *P. aeruginosa* - piperacilină-tazobactam (30-6μg), cefepim (30μg), ceftazidim (10μg), imipenem (10μg), meropenem (10μg), ciprofloxacina (5μg), levofloxacina (5μg), amikacina (30μg), gentamicina (10μg), tobramicina (10μg).

Dezavantajul acestei metode constă în influența asupra rezultatelor a compoziției și a pH-ului mediului de cultură, a densității inoculului, a stabilității și a difuziunii antibioticelor, a duratei și a temperaturii de incubare, precum și a factorului uman.

Determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI) a antimicrobienelelor pentru microorganismele izolate din biosubstraturile clinice cu ajutorul sistemului automat Vitek2 Compact (BioMerieux).

Pentru BGN glucozofermentativi (*E. coli*, *K. pneumoniae*) s-au utilizat galeriile automatizate Vitek 2 AST-GN 75 cu următorul set de antimicrobiene: amicacină, ampicilină, ampicilină/sulbactam, cefazolină, cefepim, cefoxitină, ceftazidim, ceftriaxonă, ciprofloxacina, ertapenem.

Pentru BGN glucozo-nefermentativi (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*) s-au utilizat galeriile automatizate Vitek 2 AST-N 222 cu următorul set de antimicrobiene: amicacină, aztreonam, cefepim, ceftazidim, ciprofloxacina, colistin, gentamicină, umipenem, meropenem, minociclină, pefloxacina, piperacilină, piperacilină/tazobactam, rifampicină, ticarcilină, ticarcilină/acid clavulanic, tobramicină, trimetoprim/sulfametoxazol.

Controlul intern de calitate al testării la antimicrobiene s-a efectuat cu tulpina de referință *E. coli* ATCC 25922.

Metode de testare a mecanismelor de rezistență

Detectarea tulpinilor producătoare de AmpC și BLSE

Testarea tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* la peniciline a permis selectarea izolatelor rezistente la cel puțin un preparat din grupele testate și efectuarea screening-ului la producerea enzimei AmpC. Preparatele testate au fost ampicilină (10 μg), amoxicilină-acid clavulanic (20-10 μg) și piperacilină-tazobactam (30-6 μg). Rezultatele antibiogramelor au fost interpretate conform EUCAST (v.13.1, 2023), iar valorile punctelor de întrerupere sunt indicate în tabelul 2.

Tabelul 2. Breakpoint-urile penicilinelor utilizate drept screening pentru prezența AmpC conform EUCAST (v.13.1, 2023)

	Ampicilină	Amoxicilină-acid clavulanic	Piperacilină-tazobactam
R ¹	< 14mm	< 19 mm	< 20mm
S ²	≥ 22mm	≥ 19mm	≥ 20mm

¹Rezistent; ²Sensibil

Izolatele rezistente la cel puțin una din cele trei peniciline testate au fost selectate pentru confirmare fenotipică.

Pentru detectarea beta-lactamazelor de tip AmpC, a fost utilizat testul de sinergie dublu disc cu cefoxitină-cloxacilină (CC-DDS) care se bazează pe efectul inhibitor al cloxacilinei asupra AmpC. Kitul este comercial și conține discurile impregnate cu 30 μg cefoxitină + 200 μg de cloxacilină. Diferența între zonele de inhibare a cefoxitinei-cloxacilină și zonele cefoxitinei singure ≥4 mm este considerată pozitivă pentru producția de AmpC (figura 11).

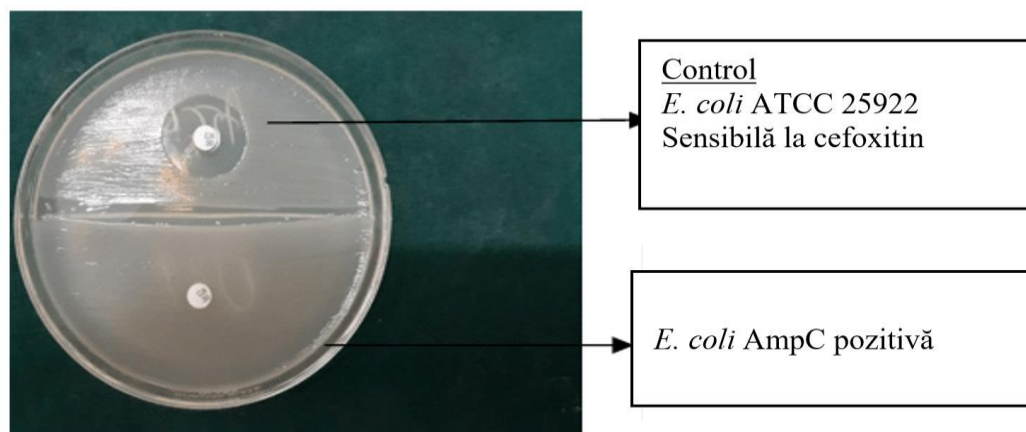


Figura 11. Testul de sinergie dublu disc: tulpină de *E. coli* producătoare de AmpC

Screening-ul tulpinilor producătoare de BLSE s-a efectuat în baza rezistenței la cel puțin un preparat din grupul CG3 (ceftazidimă -10 µg, cefotaximă - 5 µg, ceftriaxonă - 30 µg) și/sau cefalosporinelor de generația a IV-a (CG4) (cefepim - 30 µg). Rezultatele au fost interpretate conform standardului EUCAST (v.13.1, 2023), iar valorile care atribuie tulpina la categoria rezistentă sunt indicate în tabelul 3.

Tabelul 3. Breakpoint-urile cefalosporinelor utilizate drept screening pentru prezența BLSE conform EUCAST (v.13.1, 2023)

	Ceftazidimă	Cefotaximă	Ceftriaxonă	Cefepim
R ¹	< 19mm	< 17 mm	< 22 mm	< 24 mm
S ²	≥ 22mm	≥ 20mm	≥ 25mm	≥ 27mm

¹Rezistent; ²Sensibil

Tulpinile, care au arătat rezistență la cel puțin una din cele patru cefalosporine testate, au fost selectate pentru confirmarea fenotipică cu ajutorul testelor descrise în continuare.

Testul de sinergie cu dublu disc (DDST) constă în inocularea plăcilor Petri cu mediu MH cu suspensia de 0,5 conform standardului Mac Farland din tulpina izolată și aplicarea discurilor impregnate cu cefalosporine (ceftazidimă, cefotaximă, cefepim) lângă un disc ce conține acid clavulanic (ex. amoxicilină-acid clavulanic). Distanța între centrele discurilor este în medie de 20 mm (15-30 mm) și depinde de nivelul de rezistență al tulpinii testate. Plăcile sunt incubate la temperatura de 35 °C timp de 18-20 de ore.

Producerea de BLSE de către tulpinile cercetate a fost confirmată prin formarea unei zone de inhibiție în jurul discului cu cefalosporină, cu extindere în direcția discului cu acid-clavulanic sub forma unui „dop de șampanie”. Acesta este efectul de sinergism între zonele de inhibiție din jurul discurilor cu cefalosporine și discului cu inhibitor de beta-lactamaze.

Testul discurilor combinate. Discurile impregnate cu cefalosporine (ex. cefotaximă, cefepim) se aplică pe placa Petri cu același mediu ca în testul descris anterior, iar la

distanța de 15 mm de la discul cu cefalosporină se aplică alt disc cu aceeași cefalosporină în combinație cu acid clavulanic (ex. cefotaximă-acid clavulanic, cefotaximă-acid clavulanic, cefepim-acid clavulanic). Plăcile se incubează la temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, timp de 18-20 ore, după care se citesc rezultatele, măsurând diametrul zonelor de inhibiție din jurul discurilor.

Testul este considerat pozitiv (tulpina este producătoare de BLSE), dacă diametrul zonei de inhibiție din jurul discului cu cefalosporină+acid clavulanic este mai mare sau egal cu 5 mm față de diametrul zonei de inhibiție din jurul discului cu cefalosporină fără inhibitor.

Controlul intern de calitate al testelor fenotipice de detectare a BLSE s-a realizat cu tulpinile de referință *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 25922 și *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Metoda culturală a constat în inocularea tulpinii suspecte la producerea de BLSE pe mediul cromogen CHROMagar™ ESBL (MastGroup) care permite detectarea acestor bacterii prin inhibarea creșterii altor bacterii. Tulpina suspectă a fost inoculate pe suprafața plăcii cu mediul respectiv. Rezultatele au fost interpretate după 18-24 de ore de incubare aerobă la $35-37^{\circ}\text{C}$.

Izolatele de *E. coli* producătoare de BLSE au crescut în colonii de culoare roz-închis până la roșcat, în timp ce coloniile de *K. pneumoniae* producătoare de BLSE au avut culoarea albastru-metalic (figura 12).

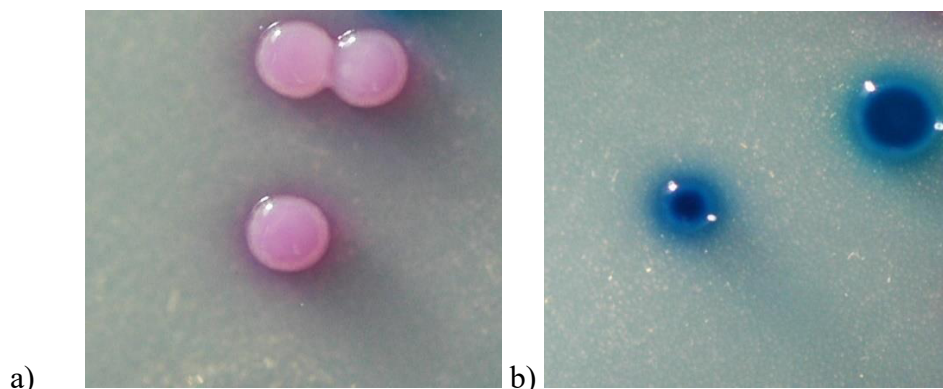


Figura 12. Colonii pe mediul cromogen CHROMagar™ ESBL: a) *E. coli* și b) *K. pneumoniae*

Metoda de testare a gradientului s-a realizat cu ajutorul benzii E-test (bioMérieux). Aceste benzi fac parte dintr-un kit comercial disponibil care confirmă producerea de BLSE. Un capăt al benzii este impregnat cu o cefalosporină în combinație cu inhibitor (cefotaximă-acid clavulanic) iar la celălalt capăt se află aceeași cefalosporină fără inhibitor (cefotaximă, cefotaximă). Citirea și interpretarea s-a efectuat conform instrucțiunilor producătorului. Testul a fost considerat pozitiv în cazul unei reduceri ≥ 8 ori a CMI a cefalosporinei în combinație cu acid clavulanic, față de CMI a cefalosporinei fără inhibitor sau în cazul formării unei elipse deformate.

Detectarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze

Pentru screening-ul enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze s-a analizat rezistența tulpinilor la preparatele grupului carbapeneme: meropenem (10 µg), imipenem (10 µg), ertapenem (10 µg). Valorile de referință conform EUCAST sunt indicate în tabelul 4.

Tabelul 4. Breakpoint-urile carbapenemelor utilizate drept screening pentru prezența carbapenemazelor conform EUCAST (v.13.1, 2023)

	Meropenem	Imipenem	Ertapenem
R ¹	< 16mm	< 19 mm	< 25mm
S ²	≥ 22mm	≥ 22mm	≥ 25mm

¹Rezistent; ²Sensibil

Pentru cercetările ulterioare, au fost selectate izolatele rezistente la cel puțin un preparat din acest grup.

Testul colorimetric Rapidec Carba NP (Nordmann-Poirel) este un test enzimatic cu modificarea pH-ului mediului în care se găsesc tulpinile producătoare de carbapenemaze. Trusa conține imipenem (substrat pentru carbapenemaze), roșu fenol (indicator de pH) și zinc (pentru favorizarea detecției MBL). Pentru realizarea testului se folosește tulpină bacteriană de 18-24 de ore inoculată pe placa de geloză- sânge sau agarul MH. Rezultatele testului se citesc și interpretează după 30 de min. de incubare la 37 °C.

Test pozitiv: virajul indicatorului de la roșu la galben, oranj-galben sau oranj-roșcat semnifică prezența carbapenemazelor de orice tip la tulpina testată.

Test negativ: culoarea roșie nemodificată.

Testul colorimetric MAST Carba PacE (MastGroup). O colonie bacteriană este suspendată în 250 µl de tampon de liză și incubată timp de 10 min. la 35 °C. O primă citire a fost efectuată la 10 min. și o a doua la 20 min. de la incubare. Nu a fost observată nici o diferență între cele două citiri pentru toate izolatele testate. Testul a fost considerat negativ, dacă culoarea a rămas galbenă, și pozitivă, dacă culoarea a fost portocalie sau roșie (figura 13). Dacă schimbarea culorii nu a fost clar identificată, a fost raportat un rezultat incert, testul fiind repetat. Un rezultat incert la a doua testare a fost considerat negativ, conform recomandărilor producătorului.

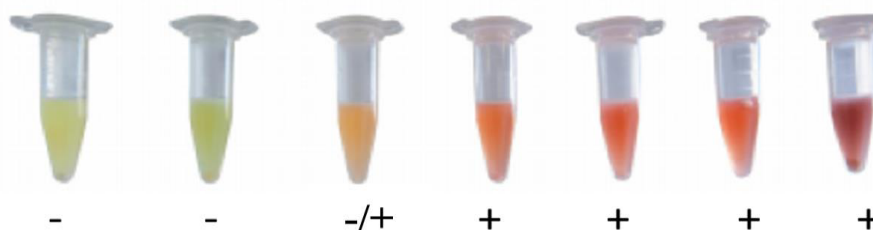


Figura 13. Interpretarea MAST® Carba PacE: - rezultat negativ, -/+ rezultat incert și + rezultat pozitiv

Testul imunocromatografic. Principiul testului imunocromatografic (numit și test rapid pe bandă sau test „lateral flow”) se bazează pe reacția antigen–anticorp și pe migrarea capilară a lichidului printr-o membrană poroasă [124,125]. Într-un tub Eppendorf s-au luat 150 µL de soluție tampon. Cu ansa bacteriologică a fost selectată o colonie izolată din cultura microbiană de 18-24 de ore de incubare și s-a suspendat în tub. Amestecul a fost omogenizat prin vortexarea tubului, apoi distribuit în casete a câte 100 µL. Rezultatele au fost citite peste 15 min. și interpretate conform instrucțiunii producătorului. Testul permite identificarea următoarelor tipuri de carbapenemaze: KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I) și NDM (N).

Rezultat pozitiv: vizualizarea unei linii roșii în regiunea de control și a uneia sau a mai multor linii roșii în regiunile de testare K, O, V, I, N, indică prezența unuia sau a mai multor tipuri de carbapenemaze.

Rezultat negativ: vizualizarea unei linii roșii în regiunea de control indică lipsa carbapenemazelor în proba testată sau un nivel nedetectabil, interpretat ca rezultat negativ.

Controlul de calitate pozitiv s-a efectuat cu tulpinile de referință *E. coli* ATCC 35218, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* 27853.

PCR. Confirmarea genotipică a prezenței genelor responsabile de mecanismele de rezistență s-a efectuat prin PCR. Testul constă din trei etape: extragerea materialului genetic din bacterie, amplificarea acestuia și testarea propriu-zisă. Pentru detectarea prezenței BLSE și a carbapenemazelor s-au folosit primeri specifici pentru genele OXA-48, KPC, VIM, IMP, NDM.

Conform tehnicii PCR, pentru detectarea genelor ce codifică producerea de BLSE și de carbapenemaze, a fost utilizat un amestec compus din 25 µl de soluție tampon 10X (15 mM MgCl₂), 0,5 U ADN Taq polimerază (Roche), 200 µM de fiecare dezoxinucleotid trifosfat, 5 µmol de fiecare primer și 50-100 ng de extract de ADN. Acest test a permis identificarea producerii de către aceste microorganisme a enzimelor responsabile de mecanismele RAM.

Tehnica de secvențiere a genomului bacterian este metoda de ultimă generație care a permis identificarea genelor asociate mecanismelor de rezistență, stabilirea și identificarea variabilității genetice și a mutațiilor apărute în genomul BGN rezistenți la antimicrobiene.

Acidul nucleic (ADN) a fost izolat din suspensia bacteriană utilizând kitul DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Germania), conform protocoalelor producătorului. Extracția ADN-ului genomic a fost realizată prin tehnologia membranei de silicagel într-o coloană de tip spin, asigurând o purificare de înaltă precizie a ADN-ului. În prima etapă a procesului de extracție, probele au fost lizate cu ajutorul tamponului de liză și al proteinazei K, apoi lizatul a fost transferat într-o coloană de centrifugare. În timpul centrifugării, ADN-ul s-a fixat pe membrana DNeasy, iar

contaminanții și inhibitorii enzimatici au fost îndepărtați prin două etape de spălare. În final, ADN-ul a fost dizolvat cu ajutorul unui tampon de eluare, obținându-se un extract gata de utilizare.

Extractele de ADN obținute au fost ulterior secvențiate folosind tehnologia Illumina de secvențiere paired-end a genomului întreg (citiri 2×150 pb). Prepararea bibliotecii de ADN a fost realizată cu ajutorul kitul Nextera XT (Illumina, San Diego, CA, SUA), ulilizând câte 1 ng de ADN genomic.

În timpul acestui proces, ADN-ul genomic a fost fragmentat și etichetat cu secvențe adaptoare (indexare). Ulterior, ADN-ul marcat a fost amplificat prin reacție PCR, apoi purificat utilizând perlele AMPure XP. Bibliotecile pregătite au fost cuantificate folosind fluorometrul Qubit 4, prin adăugarea a 2 μ l din fiecare probă de ADN la 198 μ l de soluție de lucru, urmată de evaluarea concentrației de ADN din fiecare probă. Bibliotecile pregătite pentru secvențiere au fost normalizate la o concentrație 1 nM și reunite într-un singur tub. Biblioteca combinată a fost diluată și denaturată înainte de încărcarea în platforma de secvențiere NextSeq, utilizând kitul NextSeq 500/550 v2.5 Kits (300 cycles).

Analiza bioinformatică a rezultatelor secvențierii genomului bacteriilor cercetate a fost realizată utilizând serviciile Centrului pentru Epidemiologie Genomică (<https://www.genomicepidemiology.org/services/>). Instrumentul ResFinder versiunea 4.6.0 de la serverul Centrului pentru Epidemiologie Genomică (<https://genepi.food.dtu.dk/resfinder>) a fost utilizat pentru interpretarea rezultatelor secvențierii și detectarea mutațiilor asociate cu rezistența antimicrobiană și a poziției lor specifice în genomul bacterian. Căutarea plasmidelor a fost efectuată utilizând PlasmidFinder versiunea 2.1 (<https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>). MLST versiunea 2.0 (<https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>) a fost utilizată pentru a detecta MLST pentru fiecare izolat. Pentru a construi arbori filogenetici din datele obținute, s-a utilizat CSI Phylogeny 1.4 (<https://cge.food.dtu.dk/services/CSIPhylogeny/>). Genomii de referință au fost *K. pneumoniae* ST395, *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST235 și *A. baumannii* ST2063. Fișierul de date a fost vizualizat și gestionat folosind instrumentul online iTOL (<https://itol.embl.de/>). Pentru determinarea tulpinilor hipervirulente a fost utilizat instrumentul Kleborate oferit de PathogenWatch (<https://pathogen.watch/>).

2.3. Prelucrarea matematico-statistică a datelor

Datele au fost procesate automat utilizând programele open-source RStudio, versiunea 2024.09.1+394 (<https://www.rstudio.com/>), și Python, versiunea 3.12.3 (<https://www.python.org/>). Aceste instrumente moderne, recunoscute în comunitatea academică și de cercetare, au permis o analiză riguroasă, eficientă și complet reproductibilă a setului de date. Alegerea lor a fost esențială pentru asigurarea transparenței procesului analitic, validității

rezultatelor și posibilității de replicare independentă. Codurile sursă utilizate pentru prelucrarea și analiza datelor sunt disponibile și pot fi furnizate la cerere, facilitând verificarea rezultatelor și integrarea metodologiei în cercetările similare pe viitor.

Pentru variabilele categoriale, au fost calculate frecvențele absolute și relative, însoțite de intervale de încredere de 95 % pentru estimarea proporțiilor. Această abordare a permis o caracterizare statistică solidă a distribuției datelor în cadrul fiecărei categorii. Reprezentarea vizuală a fost realizată prin diagrame cu bare (barplot) sau diagrame cu bare față-în-față (back-to-back barplot) facilitând interpretarea clară și comparabilă a distribuției categoriilor și a diferențelor între grupuri.

Pentru testarea ipotezelor asociate variabilelor categoriale, s-a aplicat testul Chi-pătrat al lui Pearson. Indiferent de dimensiunea eșantioanelor sau distribuția frecvențelor, varianta cu simulare Monte Carlo a fost utilizată, generând 100.000 de eșantioane aleatorii pentru o estimare robustă a valorii p. Această metodă a fost preferată pentru a garanta validitatea testării statistice, chiar și în condiții de frecvențe reduse sau dezechilibru între categorii.

Toate analizele statistice au fost efectuate cu un prag de semnificație statistică (α) fixat la valoarea convențională de 0,05. Interpretarea rezultatelor s-a realizat în funcție de acest prag: valorile p mai mici de 0,05 au fost considerate semnificative statistic. Semnificația practică și relevanța clinică a diferențelor observate au fost analizate suplimentar, ținând cont de contextul specific al studiului, amplitudinea efectelor identificate și potențialul impact asupra deciziilor de sănătate publică și intervențiilor clinice.

Limitările studiului. Având în vedere că *Pseudomonas aeruginosa* deține un genom cu dimensiuni cuprinse, în mod obișnuit, între 5,5 și 7 milioane de perechi de baze, nu a fost posibilă efectuarea analizei filogenetice a tulpinilor incluse în studiu. În consecință, nu a putut fi urmărită circulația acestora în cadrul instituțiilor medicale și pe teritoriul țării, și nici determinată poziționarea lor în arborii filogenetici globali.

O altă limitare a cercetării a fost reprezentată de absența unei distribuții uniforme a tulpinilor pe specii și regiuni geografice, ceea ce a îngreunat generalizarea concluziilor, iar diferențele în procedurile de recoltare, transport, procesare și interpretare au putut influența acuratețea rezultatelor.

Utilizarea metodelor fenotipice pentru determinarea producției de BLSE, în cazul tulpinilor care nu au fost secvențiate, nu exclude identificarea incompletă a mecanismelor de rezistență.

De asemenea, numărul redus de laboratoare înrolate în rețeaua Sistemului Național de Supraveghere Epidemiologică a RAM la debutul studiului a determinat un volum mic de tulpini trimise spre confirmare, considerabil inferior celui din ultimii ani ai cercetării; în aceste condiții,

nu a fost posibilă surprinderea adecvată a dinamicii evolutive și sezoniere a rezistenței acestor patogeni. În plus, lipsa evaluării surselor animale, alimentare sau de mediu a limitat interpretarea transmiterii inter-sectoriale în contextul abordării One Health.

2.4. Concluzii la capitolul 2

1. Metodele și abordările alese pentru cercetare au permis determinarea prevalenței BGN multirezistenți în etiologia maladiilor infecțioase, precum și a spectrului enzimelor de rezistență prezente la tulpinile cercetate.

2. Fiind realizat un studiu integral au fost cercetate tulpini de BGN de interes clinic, aflate în supraveghere la nivel mondial.

3. Îmbinarea metodelor clasice de cercetare cu cele moderne, precum tehnica de secvențiere a genomului bacterian, a permis obținerea de date ample, rapide și veridice despre rezistența la preparatele antimicrobiene a tulpinilor cercetate, cu identificarea și caracterizarea mutațiilor asociate cu rezistența, precum și a procesului de transfer al genelor de rezistență între specii.

3. DISTRIBUȚIA BACILOR GRAM-NEGATIVI ȘI PROFILURILE DE REZISTENȚĂ LA ANTIMICROBIENE

3.1. Diversitatea și prevalența speciilor de bacili Gram-negativi izolați din biosubstraturile clinice

Infecțiile cauzate de BGN sunt unele dintre cele mai răspândite infecții atât în comunitate, cât și în mediul intraspitalicesc. În prezentul studiu a fost evaluată diversitatea speciilor de BGN izolați din prelevatele clinice colectate de către laboratoarele din cadrul Sistemului de Supraveghere Epidemiologică a Rezistenței la Antimicrobiene din Republica Moldova în perioada anilor 2020-2023.

Specia cea mai frecvent izolată a fost *K. pneumoniae* cu o pondere de 47,1 % (Î 95 % 45,2-49,5), urmată de *E. coli* – cu 42,9 % (Î 95 % 41,0-45,3), *A. baumannii* – cu 7,4 % (Î 95 % 5,3-9,6) și *P. aeruginosa* – cu 2,7 % (Î 95 % 0,1-4,4) (figura 14).

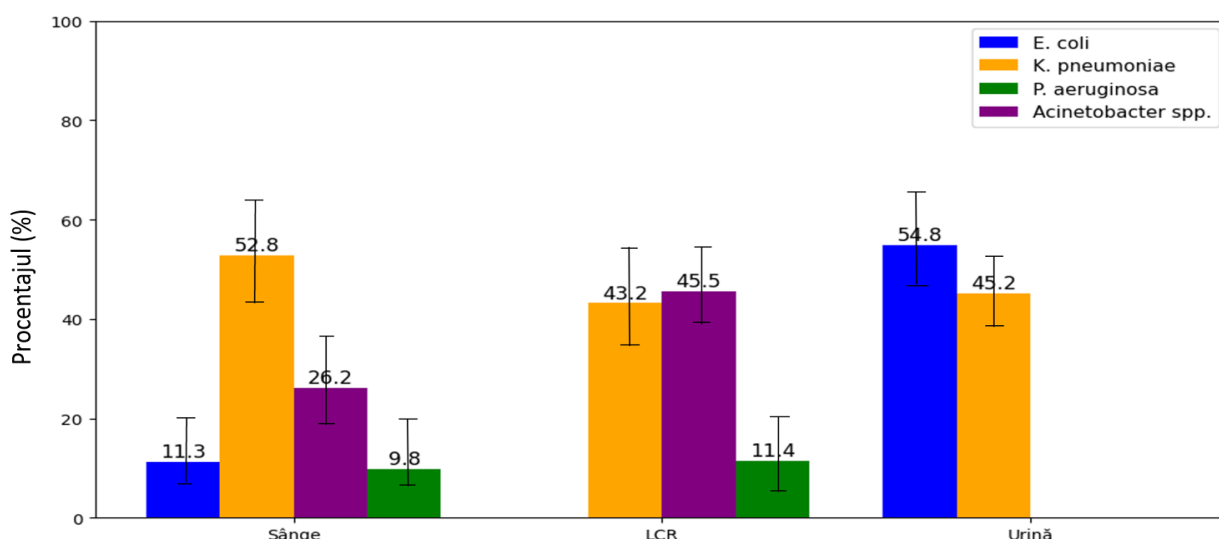


Figura 14. Spectrul tulpinilor de BGN izolate în funcție de biosubstrat

Din probele de sânge, cel mai frecvent a fost izolată specia *K. pneumoniae* cu o pondere de 52,8 % (Î 95 %, 49,3-56,3), urmată de *A. baumannii* – cu 26,2 % (Î 95 %, 23,3-29,4), *E. coli* – cu 11,3 % (Î 95%, 9,3-13,7) și *P. aeruginosa* – cu 9,8 % (Î 95%, 7,9-12,1).

În probele de LCR investigate a prevalat *A. baumannii*, cu o pondere de 45,5 % (Î 95 %, 31,7-59,9), urmată la o mică diferență de *K. pneumoniae* cu 43,2% (Î 95 %, 29,7-57,8). *P. aeruginosa* a fost izolată în 11,4 % (Î 95 %, 5,0-24,0) din probe, iar specia *E. coli* nu a fost izolată din acest biosubstrat.

Din 54,8 % (Î 95 %, 52,7-56,8) de probe de urină a fost izolată *E. coli*, iar din 45,2 % (Î 95 %, 43,2-47,3) – *K. pneumoniae* (figura 14).

Spectrul etiologic al ITU și al IFS obținut de noi este în concordanță cu rezultatele publicate în literatura de specialitate de peste hotare [20,50].

La analiza distribuției speciilor de BGN în funcție de secția în care a fost internat pacientul a fost observată o tendință comună la toate speciile de a predomina în secțiile unde, de regulă, sunt internați pacienți critici, cu forme clinice grave de infecții sau cu comorbidități, al căror statut imun este compromis (anexa 3).

Din totalul tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* cercetate, cea mai mare rată de izolare s-a înregistrat în secția de terapie intensivă – 41,3 % (ÎÎ 95 %, 39,5-43,1), urmată de secțiile boli interne – 18,2 % (ÎÎ 95 %, 16,8-19,6), urologie – 13,4 % (ÎÎ 95 %, 12,1-14,7) și chirurgie – 6,3 % (ÎÎ 95 %, 5,4-7,2).

Tulpinile de *P. aeruginosa* au prevalat în probele colectate de la pacienții din secția de terapie intensivă cu o pondere de 76,5 % (ÎÎ 95 %, 67,3-85,8) din tulpinile izolate, urmată de secția terapie intensivă pediatrică – 9,9 % (ÎÎ 95 %, 3,4-16,4) și chirurgie – 6,2 % (ÎÎ 95 %, 0,9-11,4).

Tulpinile de *A. baumannii*, ca și cele de *P. aeruginosa*, au prevalat în probele pacienților din secțiile de terapie intensivă – 76,4 % din probe (ÎÎ 95 %, 70,9-82,0), după care urmează secțiile de chirurgie cu 8,4 % (ÎÎ 95 %, 4,8-12,1) și boli interne cu 5,3 % (ÎÎ 95 %, 2,4-8,3). Cele mai puține tulpini de *A. baumannii* au fost izolate din probele prelevate de la pacienții internați în secțiile de urologie, iar tulpini de *P. aeruginosa* în aceste probe nu s-au înregistrat (anexa 3).

3.2. Profilurile de rezistență la antimicrobiene ale izolatelor cercetate

Pentru determinarea sensibilității la antibiotice, speciile de BGN identificate au fost testate prin metoda disc-difuzimetrică și cu ajutorul sistemului automatizat Vitek-2 compact. Setul de antibiotice folosit în acest scop a inclus preparate recomandate de standardul EUCAST din grupul penicilinelor, cefalosporinelor, carbapenemelor, aminoglicozidelor, fluorchinolonelor și colistin.

Rezultatele testării sensibilității tulpinilor la preparatele antimicrobiene din grupele enumerate au fost interpretate ca fiind S, SSD, R în baza standardului EUCAST (figura 15).

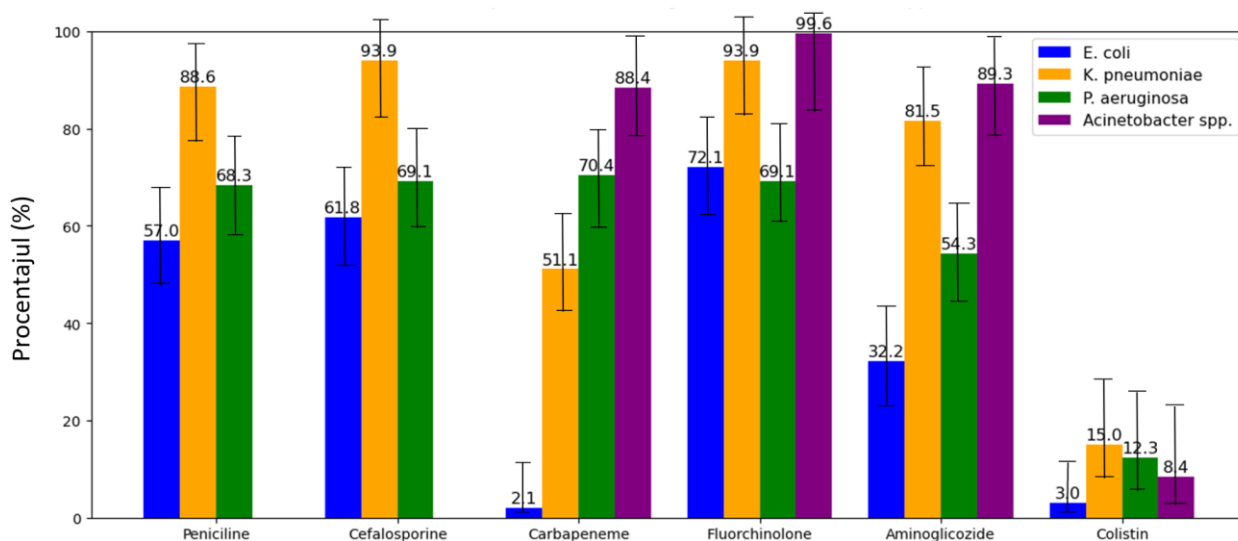


Figura 15. Rezistența speciilor de BGN cercetate la grupele de preparate antimicrobiene

Conform datelor obținute, BGN izolați au manifestat o rezistență înaltă la grupele de preparate antimicrobiene studiate, profilurile de rezistență variind în funcție de specie.

Analiza profilurilor RAM ale tulpinilor de *E. coli* incluse în cercetare a arătat că din cele 1306 de tulpini testate 57,0 % (Î 95 %, 48,3-66,5) au fost rezistente la preparatele din grupul penicilinelor, 61,8 % (Î 95 %, 49,3-68,5) au prezentat rezistență la cefalosporine și doar 2,1 % (Î 95 %, 0,1-4,5) - la carbapeneme, 72,1 % (Î 95 %, 64,3-81,5) – la fluorchinolone, 32,2 % (Î 95 %, 24,8-40,2) – la aminoglicozide și 3,0 % (Î 95 %, 1,3-5,1) – la colistină (figura 15).

Printre tulpinile MDR, 42,1 % (Î 95 %, 36,3-49,7) au fost tulpini de *E. coli* care au prezentat rezistență concomitent la trei sau la mai multe grupe de preparate antimicrobiene, inclusiv 1,4 % (Î 95 %, 0,2-2,1) au manifestat o rezistență extinsă, fiind rezistente la toate antibioticele testate, cu excepția colistinei, iar 0,3 % (Î 95 %, 0,0-1,9) din tulpini au fost rezistente la toate antibioticele testate fără excepții, deci s-au dovedit a fi PDR.

Comparativ cu *E. coli*, tulpinile de *K. pneumoniae* au demonstrat o rezistență mult mai înaltă la toate preparatele antimicrobiene studiate. Cele mai multe tulpini de *K. pneumoniae* izolate – 93,9 % (Î 95 %, 85,3-98,9) – au fost rezistente la cefalosporine și la fluorchinolone, 81,5 % (Î 95 %, 76,1-89,6,5) – la aminoglicozide, 51,1 % (Î 95 %, 43,8-58,6) – la carbapeneme și 15,0 % (Î 95 %, 8,7-23,4) – la colistină (figura 15).

Tulpinile de *K. pneumoniae* MDR au constituit peste 70,0 % (Î 95 %, 63,4-76,9), prezentând rezistență combinată la peniciline, la cefalosporine, la aminoglicozide și la fluorchinolone. XDR au prezentat 47,0 % (Î 95 %, 40,3-55,6) din tulpinile de *K. pneumoniae* izolate, iar PDR, adică rezistență absolută la toate preparatele antimicrobiene, a fost detectată la 13,7 % (Î 95 %, 6,2-20,3) din izolatele acestei specii.

Rezultatele testării sensibilității la antibiotice a speciilor bacteriene nefermentative ilustrează un tablou al rezistenței foarte alarmant. *P. aeruginosa* a înregistrat indici ai rezistenței de 70,4 % (Î 95 %, 63,8-77,6) la carbapeneme, 69,1 % (Î 95 %, 61,3-75,4) – la cefalosporine și tot atâtea la fluorchinolone, 68,3 % (Î 95 %, 58,3-76,5) – la peniciline, 54,3 % (Î 95 %, 46,4-62,2) – la aminoglicozide și 12,3 % (Î 95 %, 8,7-18,1) – la colistină (figura 16). MDR s-au dovedit a fi 66,7 % (Î 95 %, 58,8-76,5) din tulpinile de *P. aeruginosa*, XDR – 49,4 % (Î 95 %, 38,3-56,5) și PDR – 12,3 % (Î 95 %, 8,8-16,3).

Specia *A. baumannii* devine tot mai rezistentă la grupele de antimicrobiene utilizate și practic nu lasă soluții terapeutice pentru infecțiile pe care le determină, de obicei în forme grave. Din tulpinile de *A. baumannii* analizate în acest studiu, 99,6 % (Î 95 %, 95,4-100) au fost rezistente la fluorchinolone, 89,3 % (Î 95 %, 83,6-92,3) – la aminoglicozide, iar 88,4 % (Î 95 %, 84,7-96,5) au prezentat rezistență la preparatele de ultima linie. Colistina este o ultimă opțiune de tratament

al infecțiilor determinate de *A. baumannii*, în multe cazuri în combinație cu antibiotice din alt grup sau chiar din mai multe grupe, deoarece acest patogen dezvoltă rezistență și la aceste preparate. În studiul nostru, 8,4 % (Î 95 %, 2,3-12,8) din izolatele de *A. baumannii* au manifestat rezistență față de colistină (figura 15). Majoritatea tulpinilor analizate de *A. baumannii* au fost MDR (99,1 % - Î 95 %, 98,8-99,9), iar PRD – 8,4 % (Î 95 %, 1,5-14,6).

O altă tendință observată la tulpinile de BGN analizate în acest studiu a fost rezistența mai înaltă la antimicrobiene a izolatelor din sânge și din LCR, comparativ cu cele din urină (figura 16).

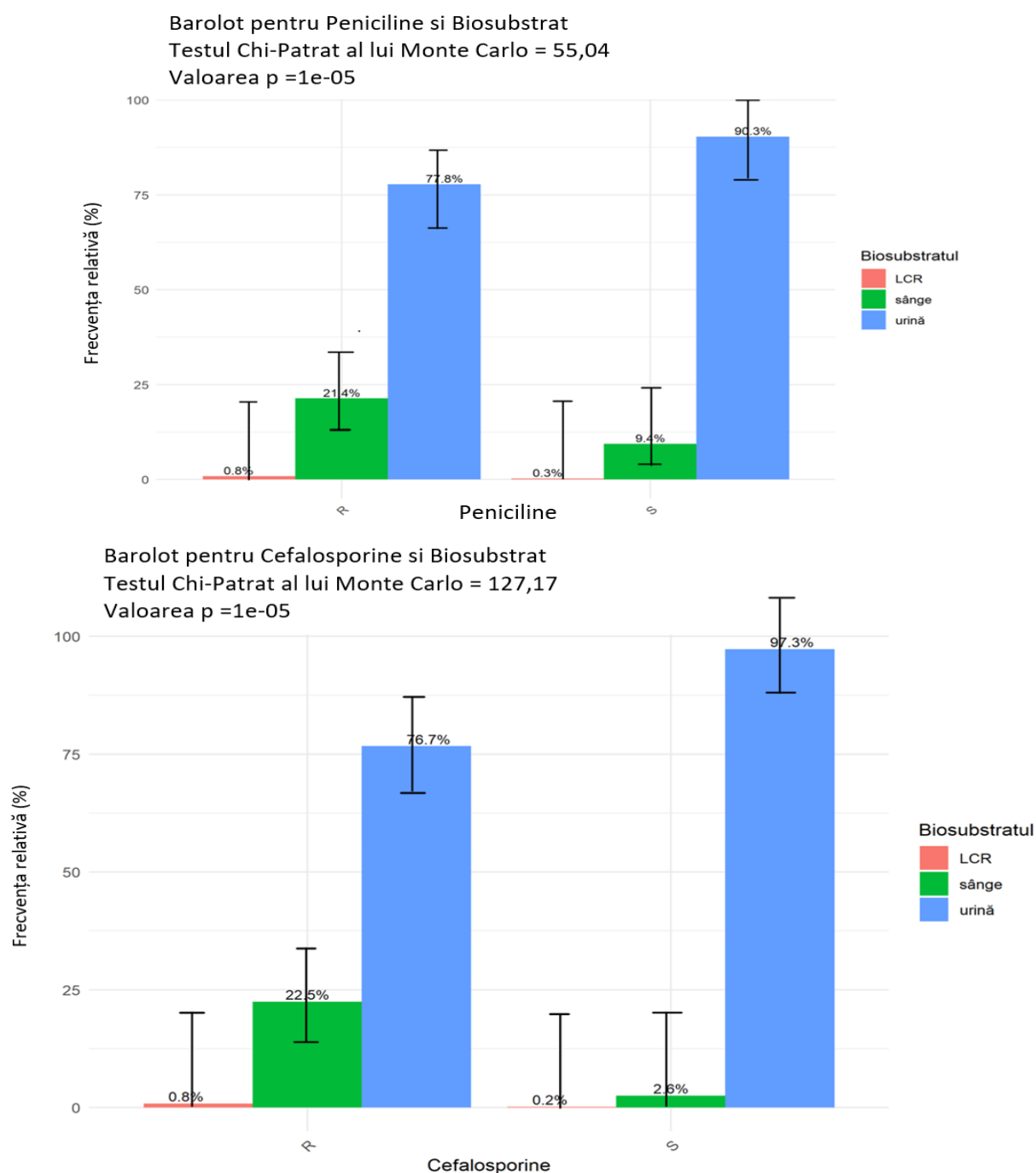


Figura 16. Profilurile de rezistență la peniciline și cefalosporine a tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* în funcție de biosubstrat

Din totalul tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* izolate din urină, rezistente la peniciline au fost 77,8 % (Î 95 %, 69,6-85,3), în timp ce 90,3 % (Î 95 %, 86,4-96,5) din tulpini au prezentat sensibilitate la acest grup de antibiotice. Raportul este invers proporțional în cazul tulpinilor izolate din sânge, unde 21,4 % (Î 95 %, 15,4-29,6) din tulpini au prezentat rezistență la peniciline, iar 9,4 % (Î 95 %, 4,5-16,3) au fost sensibile la acestea.

În cazul colistinei s-a atestat aceeași tendință, rezistență au manifestat 67,7 % (Î 95 %, 48,3-76,5) din tulpinile izolate din urină și 31,5 % (Î 95 %, 28,3-36,2) din cele din sânge, sensibile au fost 82,5 % (Î 95 %, 78,1-89,5) din izolatele din urină și doar 16,8 % (Î 95 %, 6,3-26,8) din cele din sânge (figura 17).

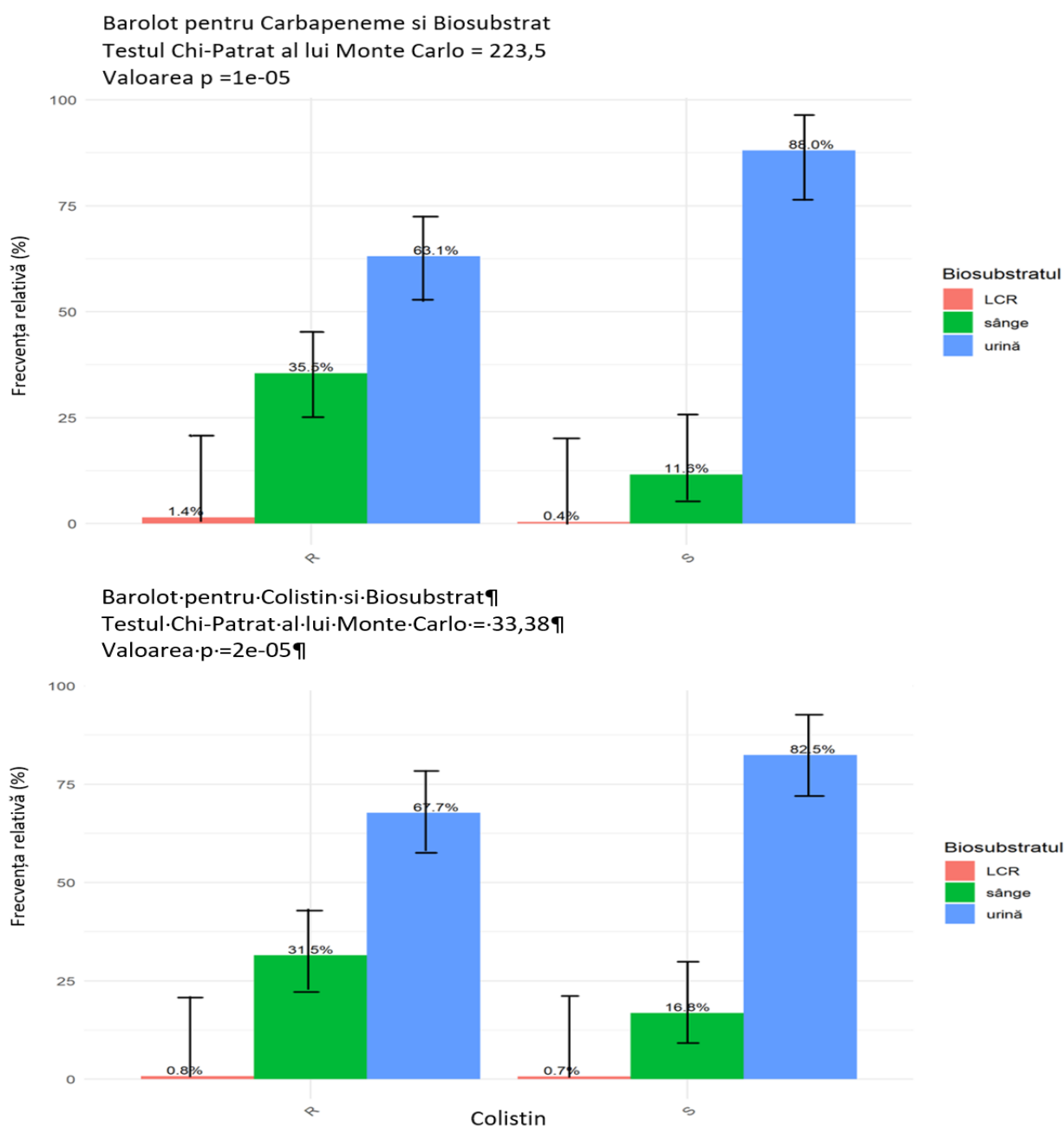


Figura 17. Profilurile de rezistență la carbapeneme și colistin a tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* în funcție de biosubstrat

Analiza RAM a izolatelor în funcție de secția în care au fost internați pacienții a evidențiat particularități specifice care pot fi vizualizate pe figura 18.

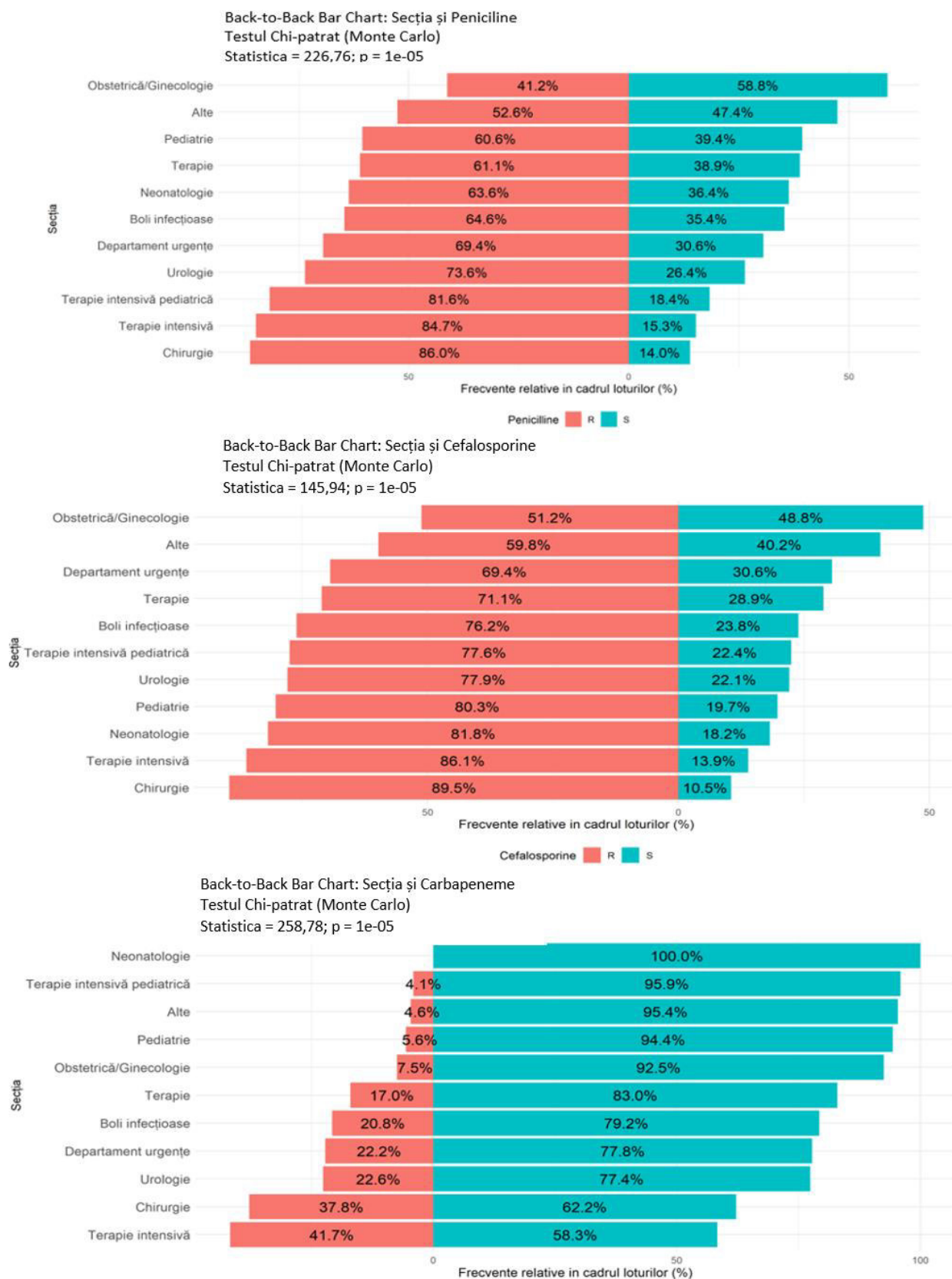


Figura 18. Profilurile de rezistență la betalactamine ale speciilor *E. coli* și *K. pneumoniae* în funcție de secția de internare a pacienților

La analiza tulpinilor rezistente de *E. coli* și de *K. pneumoniae* în funcție de secția unde a fost internat pacientul în momentul izolării tulpinii respective s-a constatat că ponderea tulpinilor rezistente la toate grupele de preparate antimicrobiene testate a fost mai mare în secțiile unde erau internați pacienți cu forme grave de boală, cu sistemul imun compromis. Astfel, din tulpinile rezistente la peniciline, 86,5 % (Î 95 %, 78,2-93,5) au fost izolate în secțiile de chirurgie, urmate de secțiile de terapie intensivă și terapie intensivă pediatrică cu o rată de izolare de 84,7 % (Î 95 %, 77,3-92,7) și, respectiv, de 81,6 % (Î 95 %, 78,3-88,4).

Distribuția tulpinilor rezistente de *E. coli* și de *K. pneumoniae* la cefalosporine ilustrează aceeași distribuție a ratelor de rezistență ca și în cazul penicilinelor: 89,5 % (Î 95 %, 80,5-91,8), 86,1 % (Î 95 %, 79,3-92,4) și 81,8 % (Î 95 %, 75,6-87,5) în secțiile chirurgie, terapie intensivă și, respectiv, neonatologie.

La carbapeneme, cele mai înalte rate de rezistență au fost înregistrate în secțiile terapie intensivă – 41,7 % (Î 95 %, 36,7-56,5), chirurgie – 37,8 % (Î 95 %, 28,3-46,2), urologie – 22,6 % (Î 95 %, 18,3-28,6), departamentul urgențe – 22,2 % (Î 95 %, 18,1-28,1). Sensibilitate absolută la carbapeneme a fost înregistrată în secțiile de neonatologie și în 95,9 % (Î 95 %, 90,3-98,8) din tulpinile izolate în secțiile de terapie intensivă pediatrică. O posibilă explicație a acestui fenomen ar fi utilizarea scăzută a carbapenemelor la nou-născuți.

Rate extrem de mari de rezistență la fluorchinolone au fost înregistrate în toate secțiile de unde au provenit tulpinile de *E. coli* și de *K. pneumoniae*, cu predominare în chirurgie – 91,3 % (Î 95 %, 88,7-96,4), urmată de secțiile boli infecțioase – 86,2 % (Î 95 %, 78,3-96,5), departamentul urgențe – 86,1 % (Î 95 %, 78,2-96,3), terapie intensivă – 85,9 % (Î 95 %, 76,8-92,9), urologie – 84,5 % (Î 95 %, 74,3-91,6), boli interne – 82,6 % (Î 95 %, 77,3-89,5), neonatologie – 81,8 % (Î 95 %, 78,3-87,5), obstetrică/ginecologie – 75,0 % (Î 95 %, 64,8-86,6), terapie intensivă pediatrică – 73,5 % (Î 95 %, 66,3-79,7), pediatrie – 70,4 % (Î 95 %, 63,2-76,4).

Cele mai rezistente tulpini la aminoglicozide (figura 19) au fost izolate de la pacienții internați în secțiile: chirurgie – 73,3 % (Î 95 %, 66,1-79,3), terapie intensivă pediatrică – 71,4 % (Î 95 %, 65,9-78,1), terapie intensivă – 67,2 % (Î 95 %, 58,4-76,5).

La colistină, rata rezistenței a fost mică, dar cele mai rezistente tulpini au fost identificate în departamentul urgențe – 16,7 % (Î 95 %, 6,8-24,5), secțiile de terapie intensivă – 14,2 % (Î 95 %, 10,5-20,3) și chirurgie – 9,9 % (Î 95 %, 4,3-16,5).

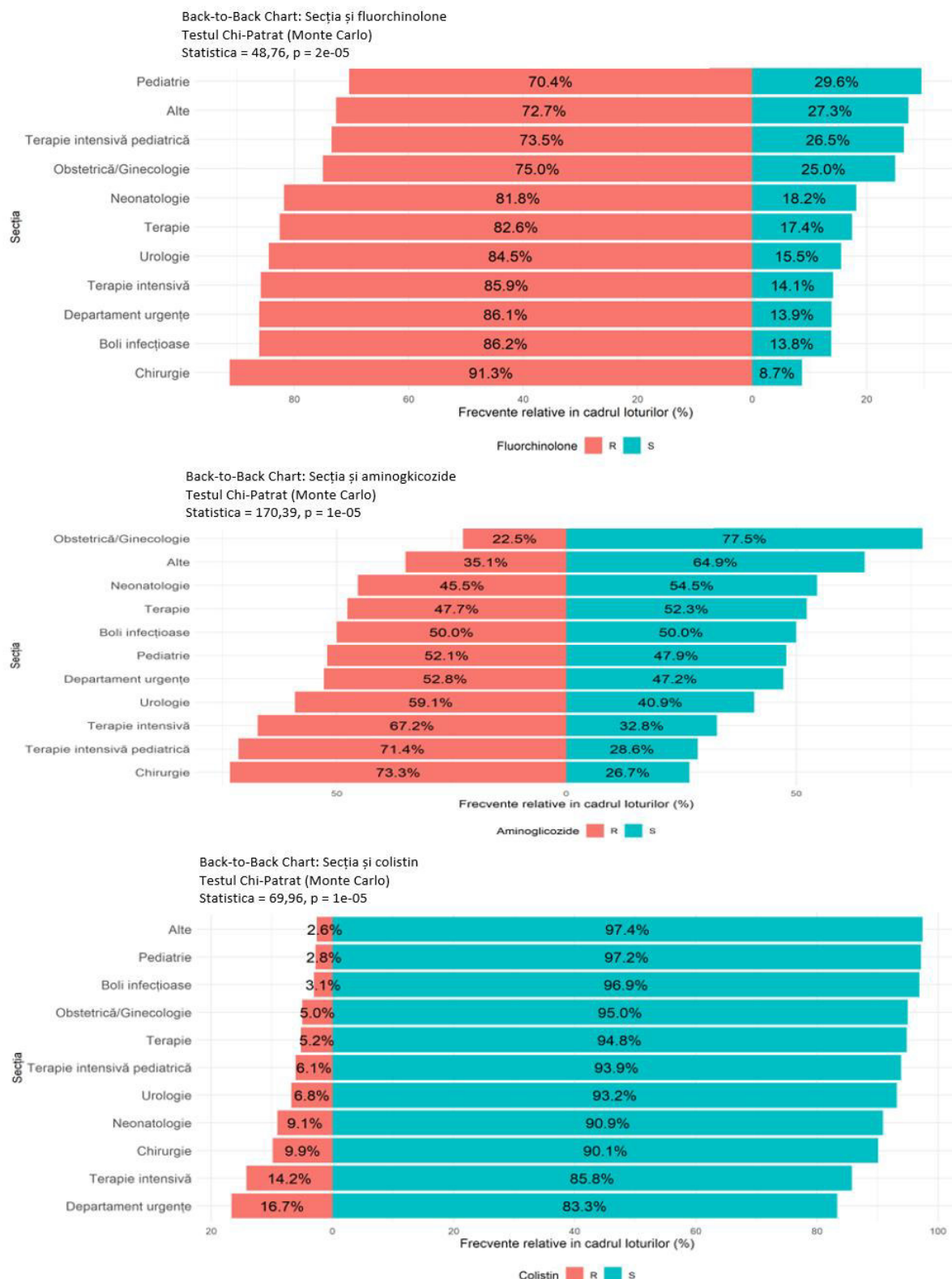


Figura 19. Profilurile de rezistență la fluorochinolone, aminoglicozide și colistin ale speciilor *E. coli* și *K. pneumoniae* în funcție de secția de internare a pacienților

Rezistența BGN nefermentativi în funcție de secția din care au parvenit nu relevă mari diferențe față de *E. coli* și de *K. pneumoniae*, cu excepția ratelor de rezistență mult mai ridicate a speciilor *P. aeruginosa* și *A. baumannii* la toate grupele de antimicrobiene testate (figura 20).

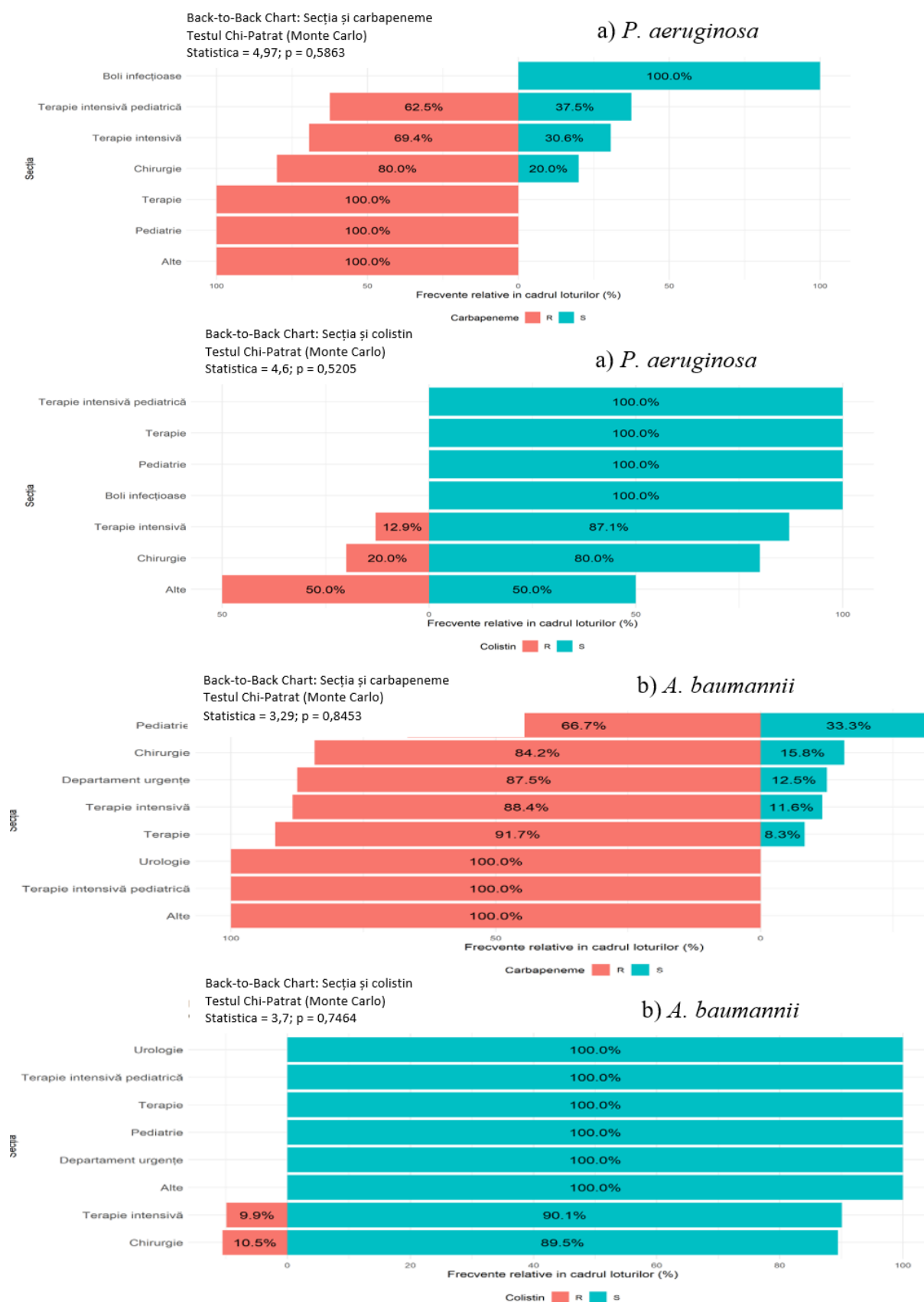


Figura 20. Profilurile de rezistență ale speciilor *P. aeruginosa* și *A. baumannii* în funcție de secția de internare a pacienților

Cele mai rezistente tulpini de *P. aeruginosa* la antibioticele de ultima linie, cu o rată de rezistență de 100 % (Î 95 %, 98,3-100), au fost izolate din probele recoltate din secțiile pediatrie și terapie, urmate de cele din secțiile de chirurgie, terapie intensivă și terapie intensivă pediatrică, cu rate de rezistență de 80,0 % (Î 95 %, 74,6-88,8), 69,4 % (Î 95 %, 60,1-76,6) și, respectiv, 62,5 % (Î 95 %, 56,7-69,8).

Toate tulpinile de *A. baumannii* parvenite din secțiile terapie intensivă pediatrică și urologie au fost rezistente la carbapeneme, iar rata de rezistență a celor din secțiile terapie, terapie intensivă, departamentul urgențe, secțiile chirurgie și pediatrie a constituit 91,7 % (Î 95 %, 88,3-96,4), 88,4 % (Î 95 %, 80,9-95,3), 87,5 % (Î 95 %, 79,9-95,7), 84,2 % (Î 95 %, 76,8-91,6) și 66,7 % (Î 95 %, 58,3-72,8) respectiv.

În secțiile chirurgie și terapie intensivă au fost înregistrate cele mai multe tulpini rezistente aparținând speciilor *P. aeruginosa* și *A. baumannii* (figura 20).

Analiza pattern-urilor de rezistență a BGN cercetați denotă nivele de rezistență îngrijorătoare la antimicrobienele testate, mai mult de atât, multe tulpini s-au dovedit a fi MDR și chiar PDR.

Rezistența crescută a izolatelor din sânge și din LCR, comparativ cu cele din urină, este un alt semn de alarmă, deoarece evoluția deseori fulminantă a IFS determinate de speciile rezistente limitează acțiunile medicului atât în opțiunile de tratament, cât și în timpul de acțiune.

Studii internaționale și naționale menționează că în spitale se utilizează doze de antimicrobiene per pacient mai mari decât în comunitate [2,100]. Rezistența crescută a izolatelor din secțiile terapie intensivă, chirurgie, departamentul urgențe poate fi o consecință a practicilor de administrare de doze mai mari pacienților în stare gravă în scopul salvării vieții lor, întrucât speciile patogene circulante în mediul respectiv au dezvoltat rezistență.

Analiza mecanismelor de rezistență detectate la BGN prin diferite metode

TSA a servit drept screening pentru producerea de β -lactamaze cu spectru extins și de carbapenemaze. Analiza antibiogrammei a scos în evidență tulpinile suspecte la producerea enzimelor de rezistență. În procesul de analiză au fost suspectate tulpini care au dezvoltat două și mai multe mecanisme de rezistență concomitent (figura 21).

Tulpinile suspecte la dezvoltarea unui singur mecanism de rezistență, precum producerea de BLSE, de beta-lactamaze de tip AmpC și de carbapenemaze, au constituit 25,1 % (Î 95 %, 23,5-26,7), 5,8 % (Î 95 %, 4,9-6,6) și 0,1 % (Î 95 %, 0,0-0,2) respectiv.

Izolatele suspecte la producerea combinațiilor de enzime de rezistență AmpC+BLSE au constituit 26,2 % (Î 95 %, 24,6-27,9), BLSE+carbapenemaze – 1,0 % (Î 95 %, 0,6-1,4), AmpC+carbapenemaze – 0,5% (Î 95 %, 0,2-0,7).

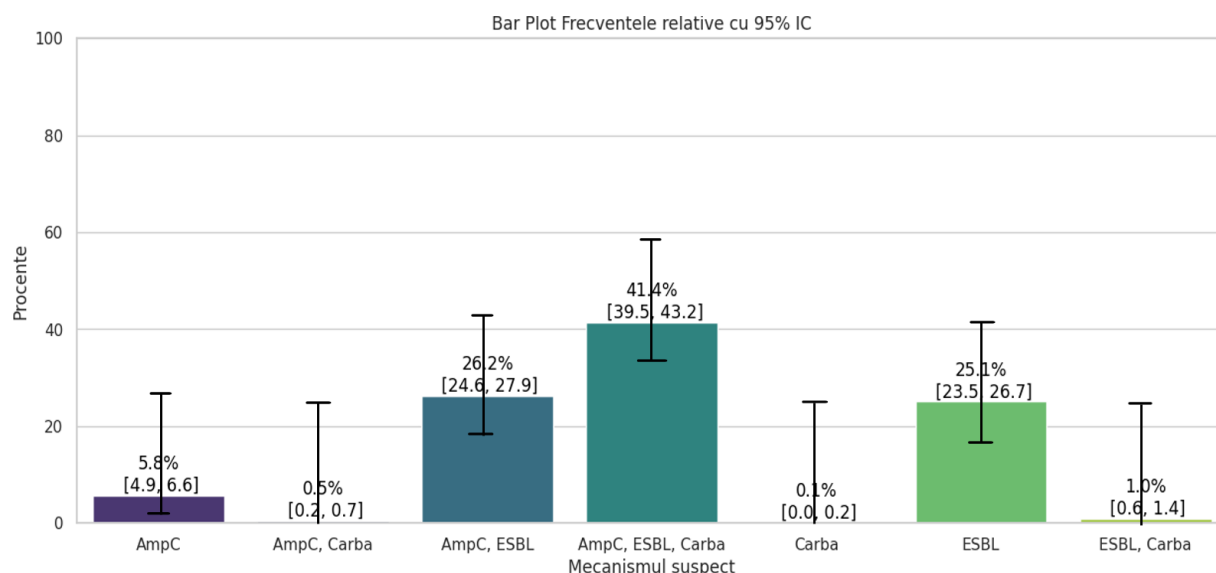


Figura 21. Mecanismele suspecte de rezistență la *E. coli* și la *K. pneumoniae* conform rezultatelor TSA

O constatare alarmantă este ponderea cea mai înaltă, 41,4 % (ÎÎ 95 %, 39,5-43,2), a tulpinilor care ar putea produce concomitent trei tipuri de enzime de rezistență, cum ar fi AmpC+BLSE+carbapenemaze.

Tulpinile suspecte la dezvoltarea unui singur mecanism de rezistență, precum producerea de BLSE, de beta-lactamaze de tip AmpC și de carbapenemaze, au constituit 25,1 % (ÎÎ 95 %, 23,5-26,7), 5,8 % (ÎÎ 95 %, 4,9-6,6) și 0,1 % (ÎÎ 95 %, 0,0-0,2) respectiv.

Izolatele suspecte la producerea combinațiilor de enzime de rezistență AmpC+BLSE au constituit 26,2 % (ÎÎ 95 %, 24,6-27,9), BLSE+carbapenemaze – 1,0 % (ÎÎ 95 %, 0,6-1,4), AmpC+carbapenemaze – 0,5 % (ÎÎ 95%, 0,2-0,7).

O constatare alarmantă este ponderea cea mai înaltă, 41,4 % (ÎÎ 95 %, 39,5-43,2), a tulpinilor care ar putea produce concomitent trei tipuri de enzime de rezistență, cum ar fi AmpC+BLSE+carbapenemaze.

Rezultatele testării tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* producătoare de AmpC și BLSE prin diferite metode fenotipice, și de biologie moleculară sunt prezentate pe tabelul 5.

Astfel, prin DDST a fost confirmată rezistența la peniciline doar a 2,7 % (ÎÎ 95 %, 1,5-3,8) din izolatele de *E. coli* suspectate de producerea β -lactamazei de tip AmpC.

Din cele 1271 de tulpini de *K. pneumoniae* rezistente la peniciline și suspecte la producerea de AmpC, prin DDST au fost confirmate doar 2,2 % (ÎÎ 95%, 1,4-3,0).

Numărul mare al tulpinilor suspecte la producerea de enzime de rezistență comparativ cu cele confirmate poate fi explicat prin prezența altor mecanisme de rezistență, inclusiv la preparatele din grupul penicilinelor.

Tabelul 5. Rezultatele testării izolatelor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* prin diferite metode de detecție a AmpC și BLSE

	<i>E. coli</i>				<i>K. pneumoniae</i>			
<i>Peniciline</i>	R (n=745) ¹	ÎÎ 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea <i>p</i>	R (n=1271) ¹	ÎÎ 95% ²	Testul statistic ³	Valoar ea <i>p</i>
AmpC			1,306	<0,001			1,358	<0,001
Negative	725 (97,3%)	96%, 98%			1,237 (97,3%)	96%, 98%		
Pozitive	20 (2,7%)	1,5%, 3,8%			28 (2,2%)	1,4%, 3,0%		
<i>Cefalospori ne</i>	R (n=807) ¹	ÎÎ 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea <i>p</i>	R (n=1348) ¹	ÎÎ 95% ²	Testul statistic ³	Valoar ea <i>p</i>
Cromogen agar, BLSE			292	<0,001			283	<0,001
Negative	80 (9,9%)	7,9%, 12%			789 (58,5%)	56%, 61%		
Pozitive	727 (90,1%)	88%, 92%			559 (41,5%)	39%, 44%		
DDST⁴, BLSE			292	<0,001			290	<0,001
Negative	81 (10,0%)	8,0%, 12%			854 (63,4%)	61%, 66%		
Pozitive	726 (90,0%)	88%, 92%			494 (36,6%)	34%, 39%		
Testul discurilor combinat, BLSE			291	<0,001			291	<0,001
Negative	78 (9,7%)	7,6%, 12%			843 (62,5%)	60%, 65%		
Pozitive	729 (90,3%)	88%, 92%			506 (37,5%)	35%, 40%		
E-test, BLSE			291	<0,001			291	<0,001
Negative	18 (2,2%)	0,6%, 5,0%			594 (44,1%)	41%, 58%		
Pozitive	789 (97,8%)	93%, 99%			754 (55,9%)	53%, 59%		

¹n (%) – numărul total

²ÎÎ = intervalul de încredere

³Testul Chi patrat al lui Pearson cu valoare p simulate (bazat pe 1e+05 replicări)

⁴Testul de sinergie dublu disc

Izolatele rezistente la cefalosporine și suspecte la producerea de BLSE au fost testate prin trei teste fenotipice. În cazul metodei culturale, 90,1 % (ÎÎ 95 %, 88,0-92,0) din izolatele de *E. coli* au format pe mediul cromogen colonii de culoare roză sau violetă, confirmând astfel producerea

de BLSE. Din coloniile de *K. pneumoniae* rezistente la cefalosporine, 45,1 % (Î 95 %, 39,0-44,0) s-au dovedit a fi producătoare de BLSE, formând pe acest mediu colonii de culoare albastră.

DDST a confirmat că 90,0 % (Î 95 %, 88,0-92,0) din tulpinile de *E. coli* rezistente la cefalosporine și 36,6 % (Î 95 %, 34,0-39,0) din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la cefalosporine sunt producătoare de BLSE.

Testul discurilor combinate a confirmat producerea de BLSE de către 90,3 % (Î 95 %, 88,0-92,0%) din tulpinile de *E. coli* rezistente la cefalosporine, adică cu o mică diferență față de testele menționate mai sus, și de către 37,5 % (Î 95 %, 35,0-40,0) din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la cefalosporine.

Rezultatele acestor trei teste fenotipice demonstrează că majoritatea tulpinilor de *E. coli* sunt rezistente la cefalosporine datorită capacității de producere a BLSE. În cazul *K. pneumoniae*, producerea de BLSE a fost confirmată pentru mai puțin de jumătate din tulpini, deci la baza rezistenței lor la cefalosporine stau alte mecanisme de rezistență.

Tulpinile rezistente la carbapeneme au fost suspecte la producerea de carbapenemaze, iar pentru confirmarea au fost testate prin mai multe metode (tabelul 6). Cu ajutorul testului fenotipic CarbaNP au fost selectate tulpinile producătoare de carbapenemaze fără evidențierea enzimei responsabile de rezistență. Astfel, din tulpinile de *E. coli* rezistente la carbapeneme au fost pozitive la producerea de carbapenemaze 85,7 % (Î 95 %, 73,0-99,0), iar din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme – 93,7 % (Î 95 %, 92,0-95,0).

Testul comercial MAST Carba PACE de asemenea nu a scos în evidență tipul de enzimă de rezistență, dar a permis selectarea izolatelor producătoare de carbapenemaze. Producerea de carbapenemaze a fost confirmată pentru 89,3 % (Î 95 %, 78,0-100) din tulpinile de *E. coli* rezistente la carbapeneme și pentru 96,5 % (Î 95 %, 95,0-98,0) din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme.

Tulpinile rezistente la carbapeneme au fost suspecte la producerea de carbapenemaze, iar pentru confirmarea au fost testate prin mai multe metode. Cu ajutorul testului fenotipic CarbaNP au fost selectate tulpinile producătoare de carbapenemaze fără evidențierea enzimei responsabile de rezistență. Astfel, din tulpinile de *E. coli* rezistente la carbapeneme au fost pozitive la producerea de carbapenemaze 85,7 % (Î 95 %, 73,0-99,0), iar din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme – 93,7 % (Î 95 %, 92,0-95,0).

Testul comercial MAST Carba PACE de asemenea nu a scos în evidență tipul de enzimă de rezistență, dar a permis selectarea izolatelor producătoare de carbapenemaze. Producerea de carbapenemaze a fost confirmată pentru 89,3 % (Î 95 %, 78,0-100) din tulpinile de *E. coli*

rezistente la carbapeneme și pentru 96,5 % (Î 95 %, 95,0-98,0) din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme.

Tabelul 6. Rezultatele testării izolatelor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemaze prin metode fenotipice și de biologie moleculară

	<i>E. coli</i>				<i>K. pneumoniae</i>			
Carbapeneme	R (n=28) ¹	Î 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea p	R (n=733) ¹	Î 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea p
Test CarbaNP			896	<0,001			1,121	<0,001
Negative	4 (14,3%)	1,3%, 27%			46 (6,3%)	4,5%, 8,0%		
Pozitive	24 (85,7%)	73%, 99%			687 (93,7%)	92%, 95%		
MAST Carba PACE			655	<0,001			1,028	<0,001
Negative	3 (10,7%)	0,00%, 22%			26 (3,5%)	2,2%, 4,9%		
Pozitive	25 (89,3%)	78%, 100%			707 (96,5%)	95%, 98%		
ICRTG⁵, Carba			867	<0,001			1081	<0,001
Negative	6 (21,4%)	13%, 47%			62(8,5%)	5%, 13%		
Pozitive	22 (78,6%)	53%, 89%			671(91,5%)	86%, 94%		
PCR, Carba			476	<0,001			932	<0,001
Negative	2 (7,1%)	0,00%, 17%			18 (2,5%)	1,3%, 3,6%		
Pozitive	26 (92,9%)	83%, 100%			708 (96,6%)	95%, 98%		

¹n (%) – numărul total

²Î = intervalul de încredere

³Testul Chi patrat al lui Pearson cu valoare p simulate (bazat pe 1e+05 replicări)

⁴Metoda imunocromatografică

Prin metoda imunocromatografică au fost confirmate ca producătoare de carbapenemaze 78,6 % (Î 95 %, 53,0-89,0) din izolatele de *E. coli* rezistente la carbapeneme și 91,5 % (Î 95%, 86,0-94,0) din izolatele de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme. Acest test a permis identificarea a cinci tipuri de enzime de rezistență produse de tulpinile cercetate.

Metoda genotipică de confirmare a producerii de carbapenemaze a inclus testul PCR prin care s-a confirmat producerea de carbapenemaze pentru 92,9 % (Î 95 %, 83,0-100) din tulpinile de *E. coli* rezistente la carbapeneme și pentru 96,9 % (Î 95 %, 95,0-98,0) din tulpinile de *K. pneumoniae* rezistente la carbapeneme, cu posibilitatea detectării mutațiilor asociate cu rezistență.

Patogenii nefermentativi rezistenți la carbapeneme – *P. aeruginosa* și *A. baumannii* – de asemenea au fost testați prin diferite metode în vederea determinării tulpinilor producătoare de carbapenemaze. Rezultatele testărilor sunt prezentate în tabelul 7.

Tabelul 7. Rezultatele testării izolatelor de *P. aeruginosa* și de *A. baumannii* la producerea de carbapenemaze prin diferite metode fenotipice și PCR

<i>Carbapeneme</i>	<i>P. aeruginosa</i>				<i>A. baumannii</i>			
	R (n=57) ¹	Î 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea <i>p</i>	R (n=199) ¹	Î 95% ²	Testul statistic ³	Valoarea <i>p</i>
Test CarbaNP			8,4	0,004			94	<0,001
Negative	41 (71,9%)	60%, 84%			24 (12,1%)	7,5%, 17%		
Pozitive	16 (28,1%)	16%, 40%			175 (87,9%)	83%, 92%		
ICRTG⁴, Carba			17	<0,001			95	<0,001
Negative	25 (43,8%)	32%, 54%			104 (52,3%)	41%, 66%		
Pozitive	32 (56,1%)	48%, 68%			95 (47,7%)	35%, 60%		
PCR, Carba			0,31	0,6			89	<0.001
Negative	20 (35,1%)	23%, 47%			31 (15,6%)	11%, 21%		
Pozitive	37 (64,9%)	53%, 77%			168 (84,4%)	79%, 89%		

¹n (%) – numărul total

²Î = intervalul de încredere

³Testul Chi patrat al lui Pearson cu valoare p simulate (bazat pe 1e+05 replicări)

⁴Metoda imunocromatografică

Din izolatele de *P. aeruginosa* rezistente la carbapeneme, 28,1 % (Î 95 %, 16,0-40,0) au dat un rezultat pozitiv la testul CarbaNP, în timp ce din tulpinile de *A. baumannii* rezistente la carbapeneme au fost testate pozitiv 87,9 % (Î 95 %, 83,0-92,0).

Prin metoda imunocromatografică au fost detectate ca producătoare de carbapenemaze 56,1 % (Î 95 %, 48,0-68,0) din izolatele de *P. aeruginosa* rezistente la carbapeneme și 47,7 % (Î 95 %, 42,3-52,3) din izolatele de *A. baumannii* rezistente la carbapeneme.

Din izolatele de *P. aeruginosa* rezistente la carbapeneme, 28,1 % (Î 95 %, 16,0-40,0) au dat un rezultat pozitiv la testul CarbaNP, în timp ce din tulpinile de *A. baumannii* rezistente la carbapeneme au fost testate pozitiv 87,9 % (Î 95 %, 83,0-92,0).

Analiza spectrului de enzime de rezistență detectate prin metoda genotipică PCR a scos în evidență prevalența tipurilor de enzime de rezistență în funcție de specia de microorganism (figura 22).

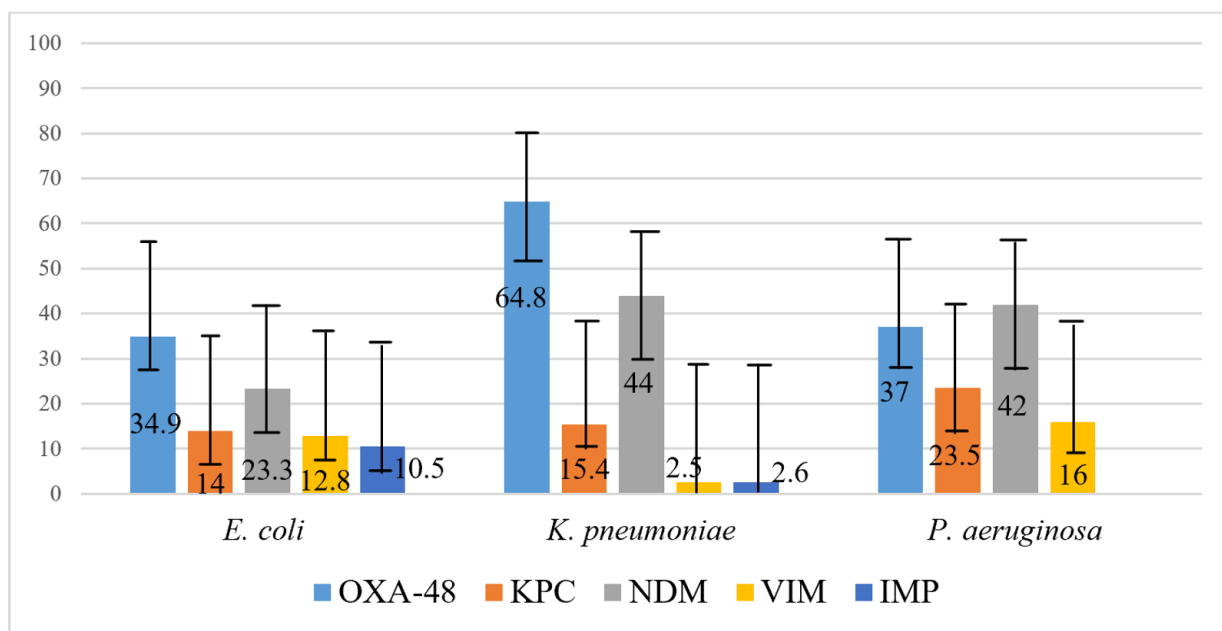


Figura 22. Spectrul enzimelor de rezistență detectate prin PCR la izolatele de *E. coli*, de *K. pneumoniae* și de *P. aeruginosa*

Astfel, în cazul speciei *E. coli* a prevalat gena codificatoare pentru oxacilinază OXA-48 care a fost detectată la 34,9 % (Î 95 %, 29,5-38,8) din izolatele suspecte la producerea de carbapenemaze, urmată de gena *blaNDM* – cu 23,3 % (Î 95 %, 20,4-26,5), *blaKPC* – cu 14,0 % (Î 95 %, 10,6-17,0), *blaVIM* – cu 12,8 % (Î 95 %, 8,3-15,7) și *blaIMP* – cu 10,5 % (Î 95 %, 5,8-13,2) din tulpinile suspecte la producerea de carbapenemaze.

La specia *K. pneumoniae* cel mai frecvent a fost detectată, de asemenea, enzima OXA-48 cu o pondere de 64,8 % (Î 95 %, 61,1-66,5) din izolatele suspecte la producerea de carbapenemaze, urmată de enzima NDM – cu 44,0 % (Î 95 %, 39,9-49,5), enzima KPC – cu 15,4 % (Î 95 %, 10,3-19,4), enzima IMP – cu 2,6 % (Î 95 %, 0,8-4,5) și enzima VIM – cu 2,5 % (Î 95 %, 0,6-5,7) din tulpinile suspecte la producerea de carbapenemaze.

Prevalența mutațiilor asociate cu rezistență detectate la izolatele de *P. aeruginosa* a fost diferită față de speciile *E. coli* și *K. pneumoniae*, cel mai frecvent fiind identificată gena *blaNDM* cu o pondere de 42,0 % (Î 95 %, 38,3-48,4), urmată de gena *blaOXA-48* – cu 37,0 % (Î 95 %, 32,5-41,6), gena *blaKPC* – cu 23,5 % (Î 95 %, 18,1-26,2) și gena *blaVIM* – cu 16,0 % (Î 95 %, 11,3-21,6) din tulpinile suspecte la producerea de carbapenemaze. Gena *blaIMP* nu a fost detectată la nici o tulpină de *P. aeruginosa* prin testul PCR.

Pentru *A. baumannii* este caracteristic un spectru de enzime de rezistență diferit față de celelalte specii cercetate. Din genele codificatoare de enzime de rezistență, la tulpinile cercetate de *A. baumannii* au fost identificate *blaOXA-23*, *blaOXA-40* și *blaOXA-58* (figura 23).

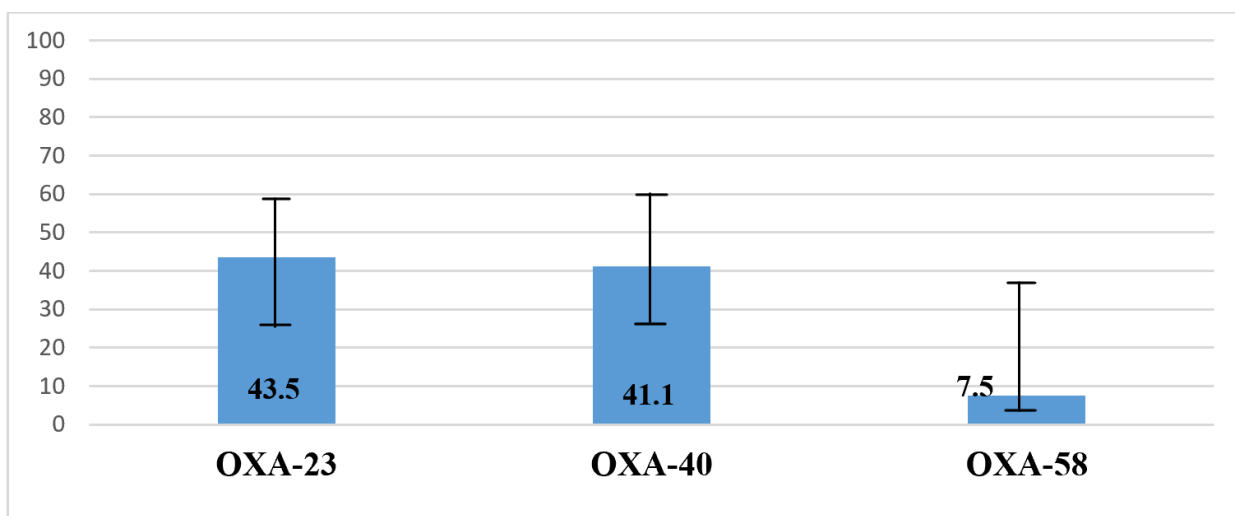


Figura 23. Spectrul enzimelor de rezistență detectate prin PCR la specia *A. baumannii*

Astfel, din cele 214 izolate de *A. baumannii* suspecte la producerea de carbapenemaze, 84,6 % (ÎI 95 %, 82,7-86,5) au fost confirmate, cel mai frecvent fiind înregistrate izolate producătoare de enzimă OXA-23 – 43,5 % (ÎI 95 %, 38,9-46,5) din tulpinile suspecte, urmate de izolatele producătoare de OXA-40 – cu 41,1 % (ÎI 95 %, 37,8-44,9) și de cele producătoare de OXA-58 – cu 7,5 % (ÎI 95 %, 5,4-9,6) (figura 23).

Un motiv de alarmare sunt tulpinile MDR la care s-au identificat concomitent două sau mai multe mecanisme de rezistență (tabelul 8). Acest fapt limitează și mai mult opțiunile de tratament ale pacienților cu infecții determinate de acești patogeni. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele ale studiilor științifice internaționale [6,20,32]

Tabelul 8. Combinații ale grupelor de enzime de rezistență identificate la *E. coli* și la *K. pneumoniae*

Combinații	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>	
	<i>n</i>	% (ÎI 95 %)	<i>n</i>	% (ÎI 95 %)
AmpC+Carba	2	0,2 (0,1–0,7)	13	0,9 (0,5–1,5)
AmpC+BLSE	3	0,3 (0,1–0,6)	4	0,3 (0,1–0,7)
Carba+BLSE	25	2,2 (1,6–3,1)	65	4,6 (3,6–5,8)
AmpC+Carba+BLSE	1	0,1 (0,0–0,4)	-	-

ÎI = intervalul de încredere

n – numărul total

Numărul izolatelor la care s-au detectat concomitent enzime de rezistență din diferite grupe nu este foarte mare, dar având în vedere răspândirea acestor microorganisme și transferul orizontal al genelor de virulență și de rezistență, acest fapt nu trebuie neglijat.

Tulpinile pozitive pentru BLSE au prezentat rezistență semnificativă statistic ($p < 0,05$) la tobramicină, urmată de amoxiclav și de amikacină, în comparație cu izolatele non-BLSE.

Rezistența la mai multe antimicrobiene a fost vizibilă la izolatele producătoare de BLSE (96,7 %, ÎI 95 %, 93,9-98,7), comparativ cu izolatele care nu produc BLSE (52,1 %, ÎI 95 %, 46,5-59,2), ceea ce a fost semnificativ statistic ($p < 0,05$).

Peste 2% din izolatele de *E. coli* cu mecanisme de rezistență confirmate au produs concomitent enzime din grupul carbapenemazelor și BLSE, adică au dezvoltat rezistență la cefalosporine și la carbapeneme. Mai puțin de 1% din tulpinile de *E. coli* au prezentat combinațiile AmpC+Carba, AmpC+BLSE și combinații de enzime din cele trei grupe cercetate.

Acceași tendință a fost observată și la *K. pneumoniae* care, în 4,6 % (ÎI 95 %, 3,6-5,8) din cazuri, a dezvoltat mecanismele Carba+BLSE, în 0,9 % (ÎI 95 %, 0,5-1,5) – combinația de enzime AmpC+Carba și în 0,3 % (ÎI 95 %, 0,1-0,7) - combinația AmpC+BLSE. Tulpini de *K. pneumoniae* producătoare de enzime din cele trei grupe cercetate nu au fost înregistrate.

Situația este mult mai dură în privința izolatelor rezistente la carbapeneme prin producerea de enzime din grupul carbapenemazelor. Rezultatele testelor PCR au evidențiat la speciile incluse în cercetare combinații ale carbapenemazelor prezente concomitent la aceeași tulpină (tabelul 9).

Combinații de două enzime prezente concomitent la una și aceeași tulpină de *E. coli* s-au identificat în 26,2 % (ÎI 95 %, 17,0–38,0) din cazuri, cele mai frecvente combinații fiind OXA-48+KPC și VIM+IMP, cu o pondere de 7,7 % (ÎI 95 %, 3,3–16,8) fiecare. La 1,5 % (ÎI 95 %, 0,9-2,2) din tulpini s-au identificat concomitent trei tipuri de enzime de rezistență (tabelul 9).

La tulpinile de *K. pneumoniae* cea mai frecventă combinație de enzime de rezistență a fost OXA-48+NDM, detectată la 32,0 % (ÎI 95 %, 22,2–44,4) din izolate, urmată de tulpinile cu o combinație de trei tipuri de enzime de rezistență OXA-48+KPC+NDM, detectată la 8,0 % (ÎI 95 %, 3,3–16,8) din tulpini.

Reprezintă îngrijorare RAM a tulpinilor de *P. aeruginosa* cu cele mai multe izolate (35,3 %, ÎI 95 %, 23,6-49,0) producătoare concomitent de trei tipuri de enzime de rezistență – OXA-48+KPC+NDM – urmate, cu 11,8 % (ÎI 95 %, 5,5-23,4) din cazuri, de tulpinile producătoare concomitent a două tipuri de enzime de rezistență (OXA-48+NDM).

La tulpinile de *A. baumannii*, cea mai frecventă combinație din trei enzime de rezistență a fost OXA-23+OXA-40, cu o pondere de 5,5 % (ÎI 95 %, 3,0-9,9) din tulpinile producătoare de carbapenemaze.

Aceste rezultate confirmă necesitatea urgentării activităților de elaborare/adaptare și de aplicare a măsurilor de combatere a răspândirii microorganismelor rezistente la antimicrobiene, mai ales acolo unde riscul de contractare a infecțiilor determinate de acești patogeni este înalt.

Tabelul 9. Combinații ale enzimelor de rezistență identificate la speciile cercetate

Combinații	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	<i>n</i>	% (Î 95 %)	<i>n</i>	% (Î 95 %)	<i>n</i>	% (Î 95 %)	<i>n</i>	% (Î 95 %)
2 enzime	17	26,2 (17,0–38,0)	427	51,6 (48,2–55,0)	26	51,0 (37,7–64,1)	13	7,2 (4,2–11,9)
OXA-48+IMP	1	1,5 (0,9–2,2)	8	1,0 (0,5–1,9)	-	-	-	-
OXA-48+NDM	2	3,1 (0,8–10,5)	265	32,0 (22,2–44,4)	6	11,8 (5,5–23,4)	-	-
OXA-48+KPC	5	7,7 (3,3–16,8)	48	5,8 (4,4–7,6)	1	2,0 (0,3–10,3)	-	-
OXA-48+VIM	1	1,5 (0,9–2,2)	1	0,1 (0,0–0,4)	-	-	-	-
KPC+NDM	1	1,5 (0,9–2,2)	22	2,7 (1,8–4,0)	-	-	-	-
VIM+IMP	5	7,7 (3,3–16,8)	8	1,0 (0,5–1,9)	-	-	-	-
NDM+VIM	1	1,5 (0,9–2,2)	7	0,8 (0,4–1,7)	-	-	-	-
NDM+IMP	-	-	1	0,1 (0,0–0,4)	-	-	-	-
OXA-23+OXA-40	-	-	-	-	-	-	10	5,5 (3,0–9,9)
OXA-58+OXA-40	-	-	-	-	-	-	2	1,1 (0,3–3,9)
OXA-23+OXA-58	-	-	-	-	-	-	3	1,7 (0,6–4,8)
3 enzime	1	1,5 (0,9–2,2)	67	8,1 (6,4–10,1)	19	37,3 (25,3–51,0)	-	-
OXA-48+KPC+NDM	1	1,5 (0,9–2,2)	66	8,0 (3,3–16,8)	18	35,3 (23,6–49,0)	-	-
OXA-48+NDM+IMP	-	-	1	0,1 (0,0–0,4)	-	-	-	-
OXA-48+NDM+VIM	-	-	-	-	1	2,0 (0,3–10,3)	-	-

Î = intervalul de încredere

n – numărul total

3.3. Sensibilitatea și specificitatea testelor utilizate pentru detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene

Evaluarea testelor utilizate pentru determinarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene a BGN incluși în cercetare s-a realizat în baza sensibilității și specificității. Sensibilitatea testului este determinată de numărul de microorganisme producătoare de enzime de rezistență corect detectate, iar specificitatea reprezintă numărul de microorganisme corect detectate care nu produc nici una din enzimele de rezistență analizate.

Pentru detectarea BLSE la *E. coli* și la *K. pneumoniae* au fost utilizate metodele fenotipice: DDST, testul discurilor combinate, mediul cromogen CHROMagar™ ESB� și E-Test (testele au fost descrise în compartimentul Material și metode).

Performanța metodelor de detectare a BLSE a fost evaluată folosind metoda E-test ca standard de aur, fiind o metodă comparativ mai sensibilă, fiabilă și adecvată.

Coeficientul kappa al lui Cohen a fost calculat pentru a evalua diferențele dintre cele trei teste cu standardul de aur: $\kappa > 0,65$ a fost considerat acord înalt, iar valoarea lui $\kappa < 0,65$ – ca acord scăzut între test și standardul de aur.

Pentru producția de BLSE au fost testate 2 568 de tulpini clinice neduplicate din familia *Enterobacteriaceae* izolate din sânge, din LCR și din urină. Prevalența producției acestor enzime la izolatele testate a fost de 62,7 % (Î 95 %, 60,8-64,5). Cel mai frecvent, producția de BLSE a fost observată la izolatele de *E. coli* (90,0 %, Î 95 %, 88,4-91,4) (tabelul 10).

Tabelul 10. Numărul tulpinilor de *E. coli* și de *K. pneumoniae* producătoare de BLSE confirmate prin metoda E-test

Specia	Nr. de izolate suspecte	Nr. de izolate confirmate (% , Î 95 %)
<i>E. coli</i>	1149	1034 (90,0; 88,4-91,4)
<i>K. pneumoniae</i>	1419	576 (40,6; 38,1-43,2)
Total	2568	1610 (62,7; 60,8-64,5)

Pentru a evalua sensibilitatea și specificitatea procedurii de screening au fost incluse în analiză și 958 de determinanți negativi prin procedura de screening BLSE. În total, 2568 de izolate, potențiali producători de BLSE, au fost testate prin metode fenotipice.

Analiza rezultatelor testelor utilizate pentru confirmarea producției de BLSE a evidențiat sensibilitatea și specificitatea înaltă a tuturor metodelor. Din cele trei teste fenotipice, testul discurilor combinate a demonstrat cea mai mare sensibilitate și specificitate, ultima fiind egală cu cea demonstrată de testul DDST.

Numărul de izolate și parametrii de performanță calculați sunt prezentați în tabelul 11.

Tabelul 11. Performanța testelor de confirmare fenotipică a producției de BLSE

Metode de testare	Tulpinile testate (%)					Sensibilitatea (Î 95 %)	Specificitatea (Î 95 %)
	Total	AP	AN	FP	FN		
CHROMagar™ ESB	2568	1568	870	88	42	97,3% (96,4-98,0)	90,8% (88,8-92,5)
DDST	2568	1578	947	11	32	98,0% (97,2-98,6)	98,9% (98,0-99,4)
Testul discurilor combinate	2568	1594	947	11	16	99,0% (98,4-99,4)	98,9% (98,0-99,4)

AP-adevărat pozitive; AN-adevărat negative; FP-fals pozitive; FN-fals negative; DDST-test de sinergie cu dublu disc.

Compararea testului discurilor combinate cu celelalte metode pentru cea mai mare rată de acuratețe nu a arătat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic între rezultate ($p=0,207$).

Pentru detectarea carbapenemazelor la speciile *E. coli* și *K. pneumoniae* au fost montate trei teste fenotipice: testul colorimetric CarbaNP, MAST CarbaPACE și metoda imunotromatografică, iar pentru speciile *P. aeruginosa* și *A. baumannii* au fost montate două teste: CarbaNP și metoda imunotromatografică. Performanța acestor teste a fost comparată cu metoda genotipică PCR, considerată drept standard de aur în detectarea mutațiilor/enzimelor de rezistență.

În cadrul acestui studiu, un total de 1471 tulpini de BGN izolate din sânge, din LCR și din urină au fost testate la prezența carbapenemazelor. Prin PCR, gene codificatoare de carbapenemaze au fost detectate la 76,5 % (Î 95 %, 74,2-78,6) din tulpinile de BGN (tabelul 12).

Rezistența la carbapeneme a izolatelor de BGN fără genă codificatoare de carbapenemaze se poate datora unui alt mecanism de rezistență, precum pierderea canalelor porinelor cu hiperproducția de AmpC sau de BLSE, sau supraexprimarea pompei de eflux.

Tabelul 12. Rezultatele confirmării prin PCR a tulpinilor de BGN producătoare de carbapenemaze

Specia	Nr. de izolate suspecte	Nr. de izolate confirmate (%; Î 95 %)
<i>E. coli</i>	107	65 (60,7; 51,3-69,5)
<i>K. pneumoniae</i>	1069	828 (77,5; 74,9-79,9)
<i>P. aeruginosa</i>	81	51 (63,0; 52,1-72,7)
<i>A. baumannii</i>	214	181 (84,6; 79,1-88,8)
Total	1471	1125 (76,5; 74,2-78,6)

Din toate izolatele testate, 1125 (76,5 %, Î 95 %,74,3-78,6) s-au dovedit a fi producătoare de carbapenemaze, iar 346 (23,5 %, Î 95 %, 18,3-36,5) nu au fost identificate ca producătoare de aceste enzime.

Rezultatele evaluării performanței testelor fenotipice în detectarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze sunt prezentate în tabelul 13.

Tabelul 13. Performanța testelor fenotipice în detectarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze

Metode de testare	Tulpinile testate (%)					Sensibilitatea (Î 95 %)	Specificitatea (Î 95 %)
	Total	AP	AN	FP	FN		
CarbaNP	1471	913	301	45	212	81,2 % (78,9-83,4)	87,0 % (83,0-90,1)
<i>E. coli</i>	107	29	41	1	36	44,6% (33,2-56,7)	97,6 % (93,4-98,8)
<i>K. pneumoniae</i>	1069	702	215	26	126	84,8% (82,2-87,1)	89,2% (84,7-92,5)
<i>P. aeruginosa</i>	81	16	30	0	35	31,4% (20,3-45,0)	100 % (88,6-100)
<i>A. baumannii</i>	214	166	15	18	15	91,7% (86,8-94,9)	45,5 % (29,8-62,0)
MAST Carba PACE	1471	799	243	40	94	89,5% (87,3-91,3)	85,9 % (81,3-89,4)
<i>E. coli</i>	107	39	37	5	26	60,0% (47,9-71,0)	88,1 % (75,0-94,8)
<i>K. pneumoniae</i>	1069	760	206	35	68	91,8% (89,7-93,5)	85,5 % (80,6-89,4)
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-
ICRTG	1471	894	398	36	143	86,2 % (84,0-88,2)	91,7 % (88,7-93,9)
<i>E. coli</i>	107	39	40	2	26	60,0 % (47,9-71,0)	95,2 % (92,3-97,8)
<i>K. pneumoniae</i>	1069	724	218	23	104	87,4 % (85,0-89,5)	90,5 % (86,1-93,6)
<i>P. aeruginosa</i>	81	46	30	0	5	90,2 % (79,0-95,7)	100 % (88,6-100)
<i>A. baumannii</i>	214	85	110	11	8	91,4 % (83,9-95,6)	90,9 % (84,5-94,8)

AP-adevărat pozitive; AN-adevărat negative; FP-fals pozitive; FN-fals negative; DDST-test de sinergie cu dublu disc.

Calculul sensibilității și specificității testelor fenotipice a arătat cele mai mari valori pentru testul imunocromatografic atât pentru toate tulpinile de BGN testate, cât și pentru fiecare specie în parte. Sensibilitatea și specificitatea acestui test au constituit 86,2 % (ÎI 95%, 84,0-88,2) și, respectiv 91,7 % (ÎI 95%, 88,7-93,9), cu o diferență semnificativă din punct de vedere statistic comparativ cu testul CarbaNP ($p=<0,001$) și MAST CarbaPACE ($p=<0,001$). Calculate pentru fiecare specie cercetată în parte, nu au fost diferențe statistic semnificative între sensibilitățile și specificitățile metodei imunocromatografice (tabelul 13).

Eșantionul cercetat a cuprins 715 izolate producătoare de OXA-48 (45,3%; ÎI 95%, 42,9–47,8), 93 – de OXA-23 (5,9%; ÎI 95 %, 4,8–7,2), 187 – de KPC (11,9%; ÎI 95 %, 10,4–13,6), 499 de – NDM (31,6%; ÎI 95 %, 29,4–34,0), 49 de – VIM (3,19%; ÎI 95 %, 2,4–4,1) și 35 – de IMP (2,2%; ÎI 95 %, 1,6–3,1).

Rezultatele evaluării performanței testului imunocromatografic în detectarea tipului de enzimă de rezistență sunt prezentate în tabelul 14.

Tabelul 14. Performanța testului imunocromatografic în detectarea tipului de enzimă

Rezultat	Nr. pozitive/nr. total testate	AP	AN	FP	FN	Sensibilitatea (ÎI 95 %)	Specificitatea (ÎI 95 %)
OXA-48	593/722	593	457	85	122	82,1% (80,0-85,5)	84,3% (81,0-87,1)
OXA-23	85/93	85	110	11	8	91,4% (83,9-95,6)	90,0% (83,5-94,2)
KPC	68/187	68	1041	18	119	36,4% (29,8-43,5)	98,3% (97,3-98,9)
NDM	279/499	279	733	29	220	55,9% (51,5-60,2)	96,2% (94,6-97,3)
VIM	20/48	20	1132	8	28	41,7% (28,8-55,7)	99,3% (98,6-99,6)
IMP	3/35	3	1124	26	32	8,6% (3,0-22,4)	97,7% (96,7-98,5)

AP-adevărat pozitive; AN-adevărat negative; FP-fals pozitive; FN-fals negative; DDST-test de sinergie cu dublu disc; ÎI – intervalul de încredere.

Testul imunocromatografic a detectat 82,1 % (ÎI 95 %, 80,0-85,5) de tulpini producătoare de OXA-48, 91,4 % (ÎI 95 %, 83,9-95,6) – de OXA-23, 36,4 % (ÎI 95 %, 29,8-43,5) – de KPC, 55,9 % (ÎI 95 %, 51,7-60,2) – de NDM, 41,7 % (ÎI 95 %, 28,8-55,7) – de VIM și 8,6 % (ÎI 95 %, 3,0-22,4) – de IMP (tabelul 14).

Acest test, conform rezultatelor obținute, a avut sensibilitate și specificitate înaltă pentru enzimele OXA-23 și OXA-48, pentru celelalte enzime demonstrând doar specificități înalte, iar în detectarea tulpinilor producătoare de KPC, VIM și IMP a întâmpinat dificultăți. Testul a demonstrat o concordanță moderată în raport cu PCR pentru enzima NDM.

Rezultatele obținute la evaluarea testelor de detectare a carbapenemazelor sunt similare cu cele publicate în literatura de specialitate de peste hotare. În multe publicații se menționează că

enzimele de tip OXA prezintă dificultăți în detectare, testele arătând rezultate incerte sau fals-negative pentru enzimele OXA-181, OXA-244, OXA-58, OXA-162, OXA-204, OXA-372, OXA-51, care nu au fost elucidate nici în acest studiu [22,35,85].

3.4. Concluzii la capitolul 3

1. Nivelele de rezistență înalte și alarmante la preparatele antimicrobiene studiate, precum și răspândirea pe larg a BGN rezistenți pe teritoriul țării, evidențiate în urma analizei pattern-urilor de rezistență ale BGN incluși în studiu, accentuează necesitatea acțiunilor concentrate la nivel național în vederea combaterii fenomenului de RAM.

2. Tulpinile de *A. baumannii* au înregistrat cele mai mari rate de rezistență, ceea ce accentuează necesitatea stringentă de elaborare a noilor preparate antimicrobiene eficiente, precum și elaborarea algoritmului de depistare a rezistenței la antimicrobiene și a unui management corect de tratament.

3. Rezultatele obținute evidențiază tendința de creștere alarmantă a indicilor de rezistență la toate grupurile de preparate antimicrobiene. Astfel, *K. pneumoniae* s-a dovedit a fi rezistentă la peniciline, la fluorchinolone și la cefalosporine, iar *P. aeruginosa* – la carbapeneme.

4. Rezistență mai scăzută s-a înregistrat printre izolatele de *E. coli*, iar cele rezistente s-au dovedit a fi producătoare de BLSE. La izolatele de *K. pneumoniae* a prevalat producerea de carbapenemaze, enzima cea mai frecvent detectată fiind OXA-48, iar la izolatele de *P. aeruginosa* cel mai des a fost detectată enzima metalo- β -lactamaza NDM. Printre tulpinile de BGN cercetate, unele au dezvoltat capacitatea de a produce combinații din două și din trei enzime de rezistență.

5. Evaluarea performanței metodelor fenotipice și genotipice utilizate pentru detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene la BGN a demonstrat o acuratețe ridicată pentru majoritatea testelor analizate, cu sensibilitate și specificitate superioare pentru testul discurilor combinate în confirmarea BLSE și pentru metoda imunocromatografică în detectarea carbapenemazelor.

4. GENOTIPURI ȘI GRUPURI FILOGENETICE ALE BACILILOR GRAMNEGATIVI MULTIREZISTENȚI LA ANTIMICROBIENE

Tulpinile secvențiate în cadrul studiului au fost selectate în baza Protocolului de studiu ECDC pentru supravegherea genomică a enterobacteriaceelor rezistente la carbapenem și/sau colistină la nivelul UE, versiunea 2.0p, 2018. Acesta prevede colectarea primelor 10 izolate bacteriene consecutive neduplicate, din probe clinice colectate în scopuri diagnostice (sânge, LCR, urină, spută și secreții din plăgi). Pentru fiecare set de 10 izolate rezistente a urmat selectarea unei tulpini de aceeași specie sensibilă la carbapeneme [126].

La nivel regional tulpinile au fost testate privind rezistența la preparatele antimicrobiene, ulterior fiind trimise spre confirmare Laboratorului Național de Referință în RAM, din cadrul ANSP. După confirmarea rezistenței la antimicrobiene și a mecanismelor de rezistență, tulpinile însoțite de metadatele (date clinice, epidemiologice, microbiologice) au fost trimise Centrului de Epidemiologie Genomică al Universității Tehnice din Danemarca pentru secvențiere și analiză.

4.1. Diversitatea genelor de rezistență și caracteristica MLTS a bacililor Gram-negativi rezistenți la antimicrobiene

Odată cu apariția platformelor pentru secvențierea de ultima generație, s-au deschis noi perspective în analiza secvențelor genomului complet al unui număr mare de agenți patogeni bacterieni, inclusiv al BGN prioritari, pentru caracterizarea genetică moleculară a agenților etiologici ai maladiilor transmisibile [116,117]. Această oportunitate permite rezolvarea problemelor fundamentale și practice de microbiologie, de virusologie și de epidemiologie [117]. Evaluarea noilor metode de tipizare moleculară a tulpinilor de BGN secvențiate este o componentă importantă a studiilor epidemiologice ale bolilor infecțioase și a elaborării măsurilor de prevenire și control a RAM.

Klebsiella pneumoniae

Pentru caracteristica filogenetică a speciei *K. pneumoniae* au fost analizate 99 tulpini izolate din sânge și din LCR, manifestând fenotipic rezistență multiplă la grupele de preparate antimicrobiene. Analiza genetică a *K. pneumoniae* a inclus identificarea determinantilor genetici ai factorilor de patogenitate și de rezistența la antibiotice, determinarea tipului de secvență, folosind o schemă de secvențiere multilocus și analiza structurii genetice a elementelor mobile.

K. pneumoniae are o mare diversitate intraspecifică a structurii genomului care este clasificată folosind tiparea secvenței multilocus. Tipurile de secvențe (ST) rezultate sunt considerate semnificative din punct de vedere clinic. În acest context, în urma analizei filogenetice, utilizând platforme bioinformatic, a fost constatat faptul că toate tulpinile analizate aparțin la 16

ST diferite și au un profil alelic familial reprezentat în baza de date *Center for Genomic Epidemiology*.

Prin această metodă a fost determinată secvența de nucleotide în fragmentele din șapte gene – *rpoB* (subunități beta ale ARN polimerazei), *gapA* (gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenază), *mdh* (malat dehidrogenază), *pgi* (fosfoglucozoizomerază), *phoE* (fosforin E), *infB* (factor de inițiere a traducerii 2), *tonB* (proteina TonB). Secvențele obținute au fost comparate cu cele disponibile în bazele de date internaționale.

Analiza bioinformatică a evidențiat predominarea secvenței ST395 la 56 tulpini de *K. pneumoniae*, ST377- la 12 tulpini, ST23 – la 5 tulpini, ST11 – la 4 tulpini, ST1026 – la 4 tulpini. Au fost identificate și izolate unice: ST14, ST15, ST25, ST37, ST101, ST147, ST370, ST380, ST405, ST1037, ST6381 (figura 24).

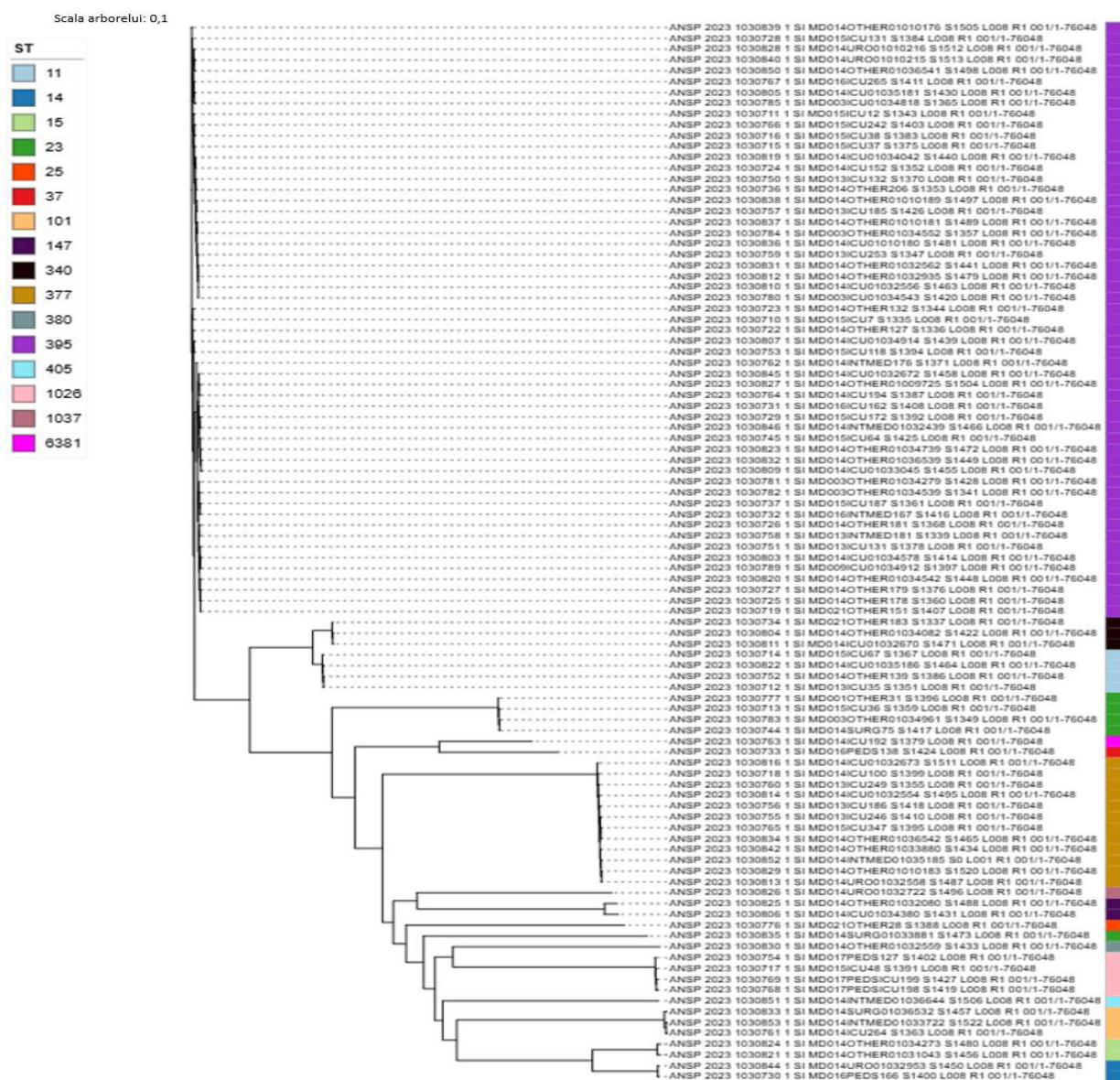


Figura 24. Arborele filogenetic al genomilor tulpinilor de *K. pneumoniae* secvențiate (MLST, iTOL)

Conform datelor din literatura de specialitate, [35,51] liniile genetice ale *K. pneumoniae* ST23 se caracterizează printr-o distribuție globală, cel mai frecvent fiind întâlnite la pacienții cu forme clinice grave precum abces hepatic, mai rar cu pneumonie.

Trebuie menționat faptul că genele ST23, responsabile pentru hipervirulența tulpinilor de *K. pneumoniae* izolate din sânge, au fost detectate în cinci izolate. Beta-lactamazele de tip CTX-M (*bla*CTX-M-55), OXA (*bla*OXA-1, *bla*OXA-48), *bla*TEM (*bla*TEM-1B), *bla*SHV (*bla*SHV-45) și *bla*LAP (*bla*LAP-2) au fost identificate în tulpinile hipervirulente de *K. pneumoniae*.

În baza rezultatelor secvențierii genomului a fost construit arborele filogenetic al *K. pneumoniae* ST395 cu cel mai frecvent întâlnite ST pe teritoriul țării (figura 25).

Rezultatele analizei arborelui filogenetic al *K. pneumoniae* ST395 indică eterogenitatea tulpinilor studiate și prezența de probe cu secvențe de nucleotide genetic similare.

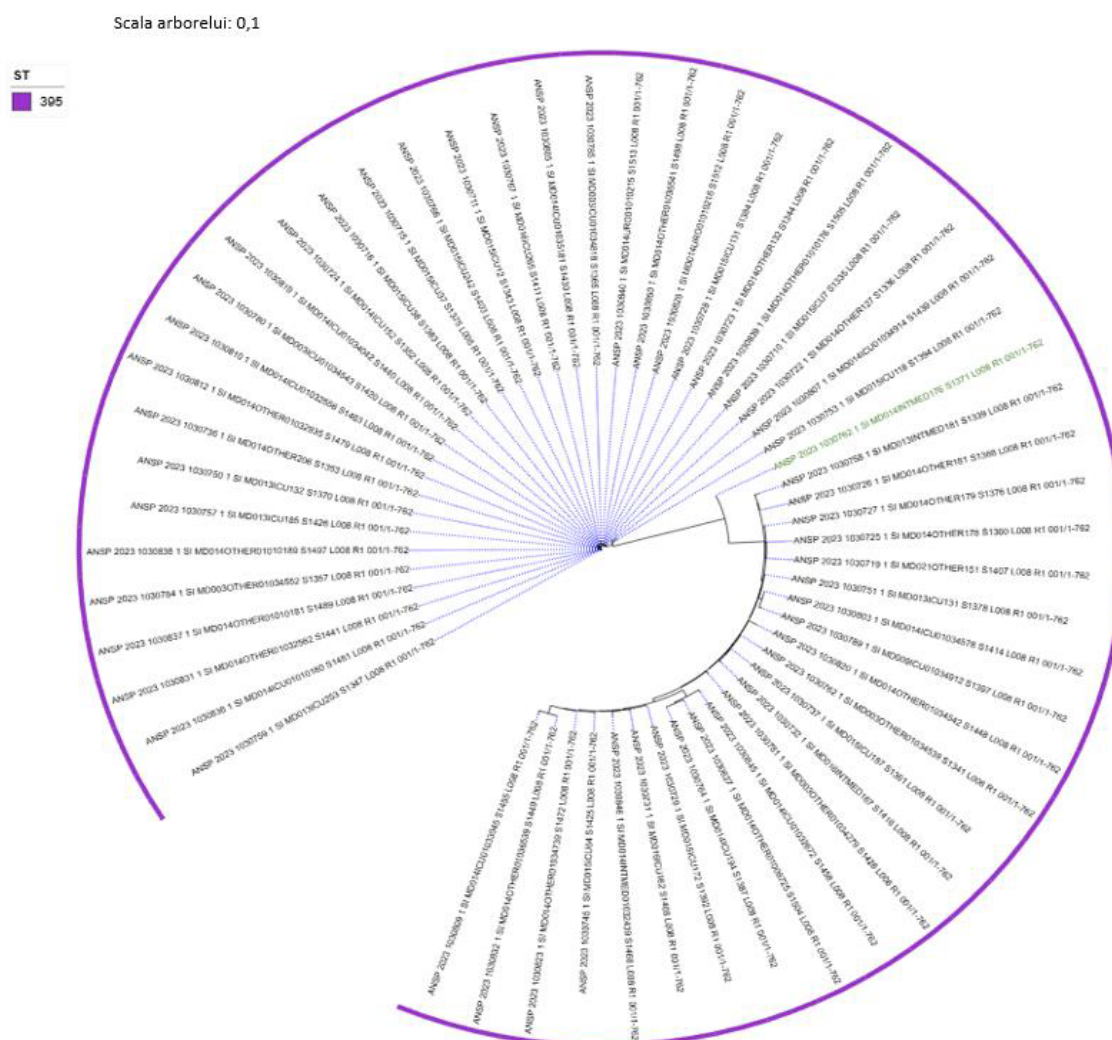


Figura 25. Analiza filogenetică a *K. pneumoniae* ST395 (iTOL)

Între probele studiate au fost constatată și o legătură epidemiologică. Toate tulpinile de *K. pneumoniae* ST395 au fost divizate în două clustere, iar tulpina izolată în laboratorul microbiologic al ANSP-2023-103075i, marcată în culoare verde, nu aparține nici unuia din aceste clustere,

respectiv nu există nici o legătură epidemiologică cu celelalte izolate reprezentate pe figura 25. Clusterul I a inclus 32 de izolate cu structură genomică similară, iar clusterul II a reunit 23 de izolate distribuite în mai multe subcluster.

În urma analizei procesului de apariție a izolatelor din clusterul I în diferite spitale din republică s-a remarcat că primele izolate invazive au apărut în anul 2020 în cadrul spitalului de nivel republican MD015A în secția de terapie intensivă (1030710, 1030711, 1030715, 1030716). În următorul an, ST395 s-a extins și, pe lângă instituția menționată (1030728), tulpini de *K. pneumoniae* ST395, care fac parte din același cluster, au fost identificate într-un spital de nivel terțiar MD014A (1030722, 1030723, 1030724, 1030736) în secția de terapie intensivă și în alte secții de profil terapeutic (figura 26).

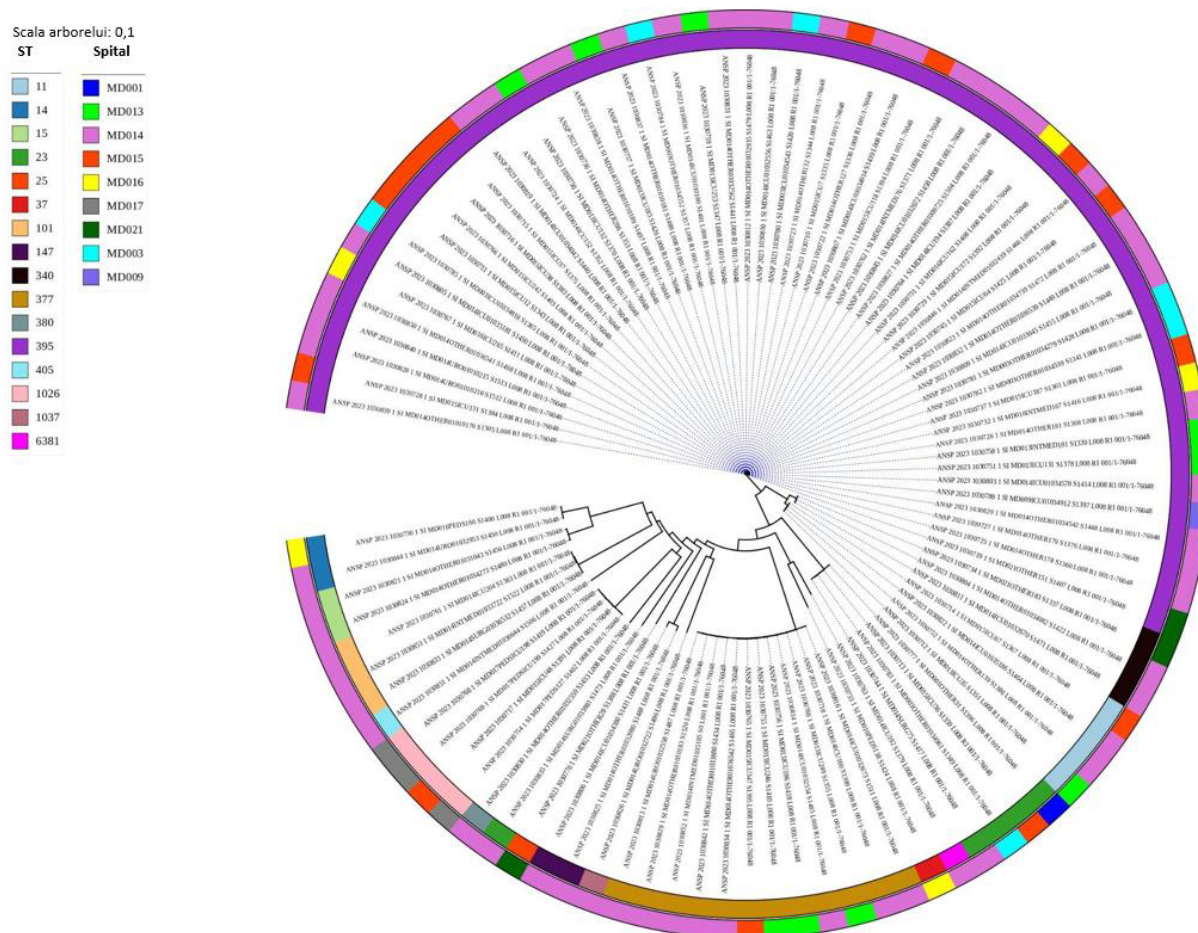


Figura 26. Răspândirea tulpinilor de *K. pneumoniae* în instituțiile medicale din țară în perioada 2020-2023.

În anul 2022, aceste izolate au fost identificate în secțiile de terapie intensivă ale altor instituții de nivel secundar: MD013A (1030750, 1030759, 1030757), MD016A (1030767).

În anul 2023, deja mai multe tulpini din cadrul primului cluster ST395 au fost izolate din sânge și din urină în instituții medicale municipale: MD013A (1030839, 1030810, 1030812, 1030838, 1030837, 1030831, 1030836 – izolate din sânge, 1030805 – izolată din urină), MD016A

secția terapie intensivă (1030828, 1030840 – izolate din sânge, 1030785 – izolată din urină), secția obstetrică și ginecologie (1030850 izolată din urină), republicane: MD014A secția terapie intensivă (1030819 – izolată din urină), MD015A secția terapie intensivă (1030780 – izolată din urină) și ambulator din cadrul unei instituții raionale Râșcani (1030807 – izolată din urină).

Din cele 23 tulpini de *K. pneumoniae* ST395 din de-al doilea cluster, primul izolat invaziv a fost identificat în anul 2021 într-o instituție de nivel terțiar MD021A (1030719). Izolate invazive au fost raportate din spitalul MD014A (1030725, 1030726, 1030727), MD015A, secția terapie intensivă (1030729, 1030737), MD016A, secția terapie intensivă (1030731) și secția medicină internă (1030732).

În anul 2022, tulpini din al doilea cluster s-au înregistrat în instituțiile MD013A, în secția de terapie intensivă (1030751), secția medicină internă (1030758); în secțiile terapie intensivă ale MD014A (1030764) și MD015A (1030745).

În anul 2023, numărul izolatelor din acest cluster a fost mai mare ($n=11$), fiind identificate în instituțiile MD013A, în secția de terapie intensivă (1030846 izolată din sânge) și secția urologie (1030820 izolată din urină); MD016A (1030832 izolată din urină), în secția medicină internă; MD014A (1030809, 1030827 izolate din sânge), în secția terapie intensivă; MD015A, în secția terapie intensivă (1030845 izolată din sânge) și secția urologie (1030845 izolată din urină). Două izolate din urină au fost identificate în instituții de tip ambulator (1030789, 1030823), ceea ce demonstrează că aceste tulpini s-au răspândit și în alte instituții medicale de pe teritoriul țării.

O tulpină invazivă de *K. pneumoniae* ST395 nu a fost inclusă în nici un cluster, aceasta fiind izolată în anul 2022 în spitalul de nivel terțiar MD014A, într-o secție de profil terapeutic.

Escherichia coli

Genotiparea izolatelor clinice de *E. coli* a fost posibilă folosind aceleași programe cu acces deschis - *Center for Genomic Epidemiology*, MLST pentru a identifica secvențele alelice și ST pentru a înțelege mai bine epidemiologia moleculară a speciei prin descrierea relației dintre tulpinile examinate și pentru a evalua diversitatea lor genotipică în rândul populației.

Din 19 izolate secvențiate de *E. coli* au fost evidențiate nouă tipuri diferite de ST care au exprimat frecvențe diferite, predominanță și heterogenitate alelică masivă. Eterogenitatea genetică a izolatelor de *E. coli* poate fi explicată prin gradul ridicat de modificare genetică a acestei specii și prin posibilitatea transferului orizontal al genelor de virulență și de rezistență la antibiotice în populațiile bacteriene care colonizează corpul uman.

Toate izolatele de *E. coli* au fost clasificate în nouă ST-uri distincte pe baza analizei MLST din secvențele genomului (figura 27).



Figura 27. Arborele filogenetic al tulpinilor de *E. coli* construit în baza secvențelor de nucleotide asamblate după profilul MLST (MLST, iTOL)

Cele mai comune și predominante ST la izolatele de *E. coli* au fost ST131 ($n = 8$), ST405 ($n = 2$). Celelalte tipuri de ST au fost găsite într-un singur izolat. Cel mai frecvent întâlnit în Republica Moldova a fost tipul ST131, care reprezintă 50 % din toate izolatele de *E. coli* investigate, ceea ce se referă la predominanța genotipică. Acest fapt poate fi explicat prin endemicitatea pe scară largă a acestor ST în rândul tulpinilor izolate din probele colectate de la pacienții internați în spitale.

La fel ca și pentru *K. pneumoniae*, în baza rezultatelor secvențierii genomului, a fost construit arborele filogenetic pentru *E. coli* ST131 (figura 28), cel mai frecvent ST întâlnit pe teritoriul țării.

În urma analizei relației filogenetice a ST la *E. coli* au fost relevate două grupuri: clusterul I care a inclus ST131 și clusterul II care reunește toate celelalte ST-uri. Clusterul II este format din două subgrupuri: Iia, care include trei ST-uri (ST1193, ST127, ST73) și Iib cu alte două subgrupuri: Iib-1 (ST405) și Iib-2 (ST410, ST99, ST2368, ST10).

Analiza filogenetică a izolatelor de *E. coli* a permis urmărirea răspândirii tulpinilor prin instituțiile medicale din țară. Astfel, primul izolat de *E. coli* ST131 a fost depistat în anul 2021, în cadrul IMSP MD014A, secția de terapie intensivă, în 2022 alte două tulpini ST131 au fost izolate într-un alt spital de nivel terțiar (MD015A). În anul 2023, astfel de izolate au fost identificate în secțiile de terapie intensivă ale altor 3 instituții medicale din țară: MD014A – 1 tulpină, MD022A – 2 tulpini, MD016A – 2 tulpini (figura 28).

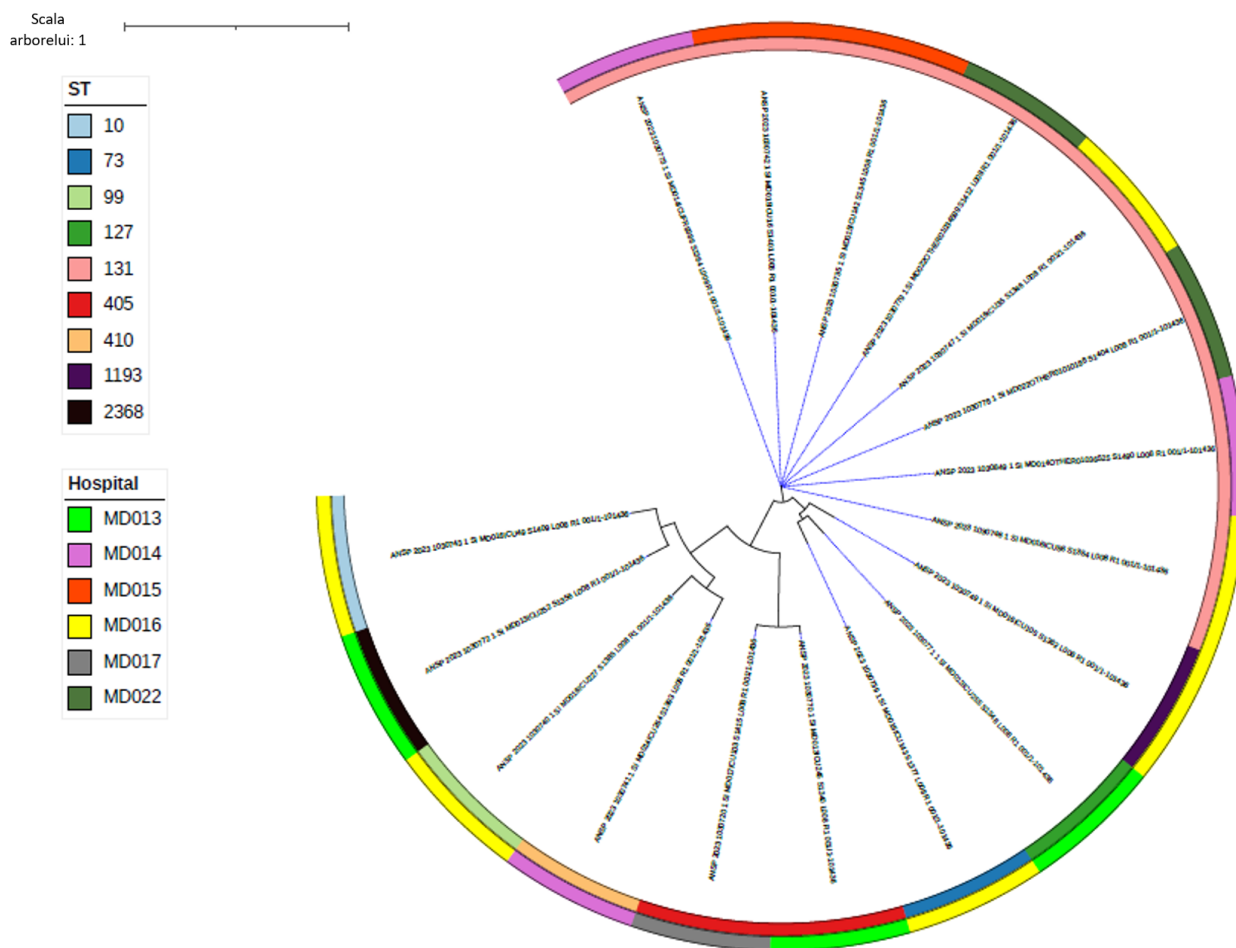


Figura 28. Analiză filogenetică a izolatelor de *E. coli* bazată pe tiparea secvenței multilocus a întregului genom (MLST, iTOL)

Studierea și caracterizarea moleculară, precum și evaluarea diversității genotipice a tulpinilor de *E. coli* este necesară pentru a înțelege mai bine rolul acestora în patogenizarea bolilor infecțioase. Scoaterea în evidență a determinanților cheie de virulență și a combinațiilor de gene de virulență poate fi un marker pentru prognozarea evoluției diferitor boli de etiologie bacteriană și va permite extinderea capacităților de diagnosticare, ținând cont de proprietățile și de virulența agentului patogen.

Tiparea izolatelor de *E. coli* obținute prin secvențierea genomului și analiza prezenței genelor asociate cu rezistența

Toate izolatele de *E. coli* au fost investigate și analizate la rezistența antimicrobiană prin analiza bioinformatică a grupelor de preparate antimicrobiene incluse în studiu: aminoglicozide, beta-lactame, macrolide, sulfonamide, tetraciclone, trimethoprine (figura 29). Pe cartograma respectivă, culoarea roșie indică prezența genelor de rezistență, iar culoarea verde marchează absența acestor gene.

În secvențele genomilor analizați au fost detectate 30 de mutații genice asociate cu rezistența antimicrobiană dobândite din șase clase diferite.

Din familia genei de rezistență antimicrobiană dobândită CTX-M, gena *bla*CTX-M-15 a fost găsită în șase izolate, gena *bla*CTX-M-27 – în 14 izolate, iar gena *bla*CTX-M-55 a fost identificată aproape în toate izolatele (șase izolate).

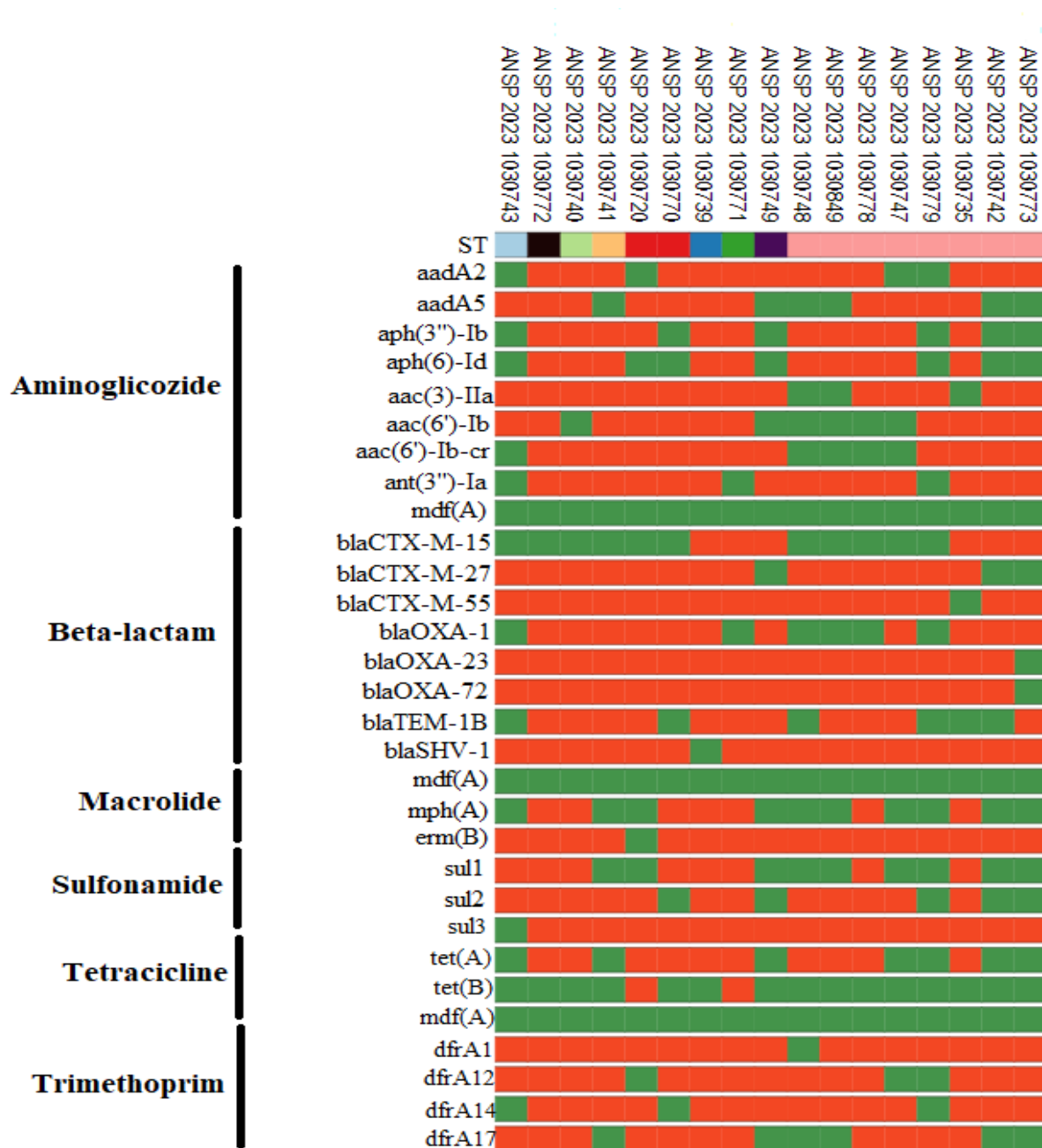


Figura 29. Tiparea izolatelor de *E. coli* și analiza bioinformatică a genomului (ResFinder, iTOL)

Gena *bla*OXA-1 a fost prezentă în genomul a 11 izolate de *E. coli*, iar genele *bla*OXA-23 și *bla*OXA-72 – în majoritatea izolatelor secvențiate (în 16 probe) și doar un izolat secvențiat nu a prezentat această genă.

Din genele codificatoare de β -lactamaze, *bla*TEM-1B a fost detectată în 11 izolate.

În total au fost detectate nouă mutații genice asociate cu rezistența pentru aminoglicozider. Gena *aadA2* a fost identificată în 13 izolate, genele *aadA5*, *aph(3'')-Ib* și *aac(6')-Ib* - în 11 izolate, *aac(6')-Ib-cr* - în 12, gena *aph(6)-Id* - în zece, iar genele *aph(3')-IIa* și *ant(3')-Ia* - în câte 14 izolate fiecare.

Mutația genei *erm(B)* asociată cu rezistența la macrolide a fost întâlnită practic în toți genomii analizați, în timp ce gena *mdf(A)* nu a fost identificată nici într-un izolat.

Mutația genei *sul1* asociată cu rezistența la sulfonamidă a fost detectată în genomul a opt tulpini de *E. coli*, *sul2* - în genomul a 12 tulpini, iar *sul3* a fost prezentă în genomul a 16 tulpini.

Din cele patru gene care codifică pentru rezistență la trimetoprim, gena *dfrA1* a fost identificată în 16 izolate, *dfrA12* și *dfrA14* - în câte 14 izolate fiecare, iar *dfrA17* a fost găsită în genomul a 11 izolate (figura 29).

Acinetobacter baumannii

Numărul focarelor asociate cu *A. baumannii* a crescut rapid în ultimele decenii, iar rezistența antimicrobiană a acestora limitează grav opțiunile de tratament disponibile.

Secvențierea genomului *A. baumannii* oferă o perspectivă suplimentară asupra procesului evolutiv într-un grup de izolate, a potențialului de virulență și a rezistenței la antibiotice. Ca și în cazul izolatelor menționate anterior, analiza genomică a polimorfismului uninucleotidic (SNP) al tulpinilor de *A. baumannii*, de asemenea, oferă o corelație între tulpinile izolate și permite stabilirea legăturii epidemiologice.

Datele secvențierii genomului izolatelor de *A. baumannii* oferă posibilitatea de a face diferențierea între tulpinile strâns legate și de a verifica dacă acestea sunt clone ale aceleiași tulpini, stabilind individualitatea lor.

Pentru evaluarea rezultatelor secvențierii întregului genom al tulpinilor de *A. baumannii* izolate din probele clinice ale pacienților a fost construit un arbore filogenetic din 28 de izolate de *A. baumannii*, în baza analizei SNP (figura 30).

Toate izolatele de *A. baumannii* secvențiate și analizate au fost clasate în șase grupe în raport cu tipul de secvență, fiecare tip constând din mai multe izolate. MLST este o metodă biologică moleculară comună utilizată pe scară largă pentru a determina liniile clonale ale tulpinilor de *A. baumannii* la investigarea cazurilor de infecție. Programele cu acces deschis *Center for Genomic Epidemiology*, MLST a identificat șase ST-uri, fiecare conținând de la una până la zece izolate. Analiza filogenetică MLST a arătat predominanța ST2063 (detectat în zece izolate) la tulpinile izolate din biosubstraturile clinice, urmat de ST2839, depistat în cinci izolate, și ST231, ST1816 detectate în câte patru izolate fiecare.

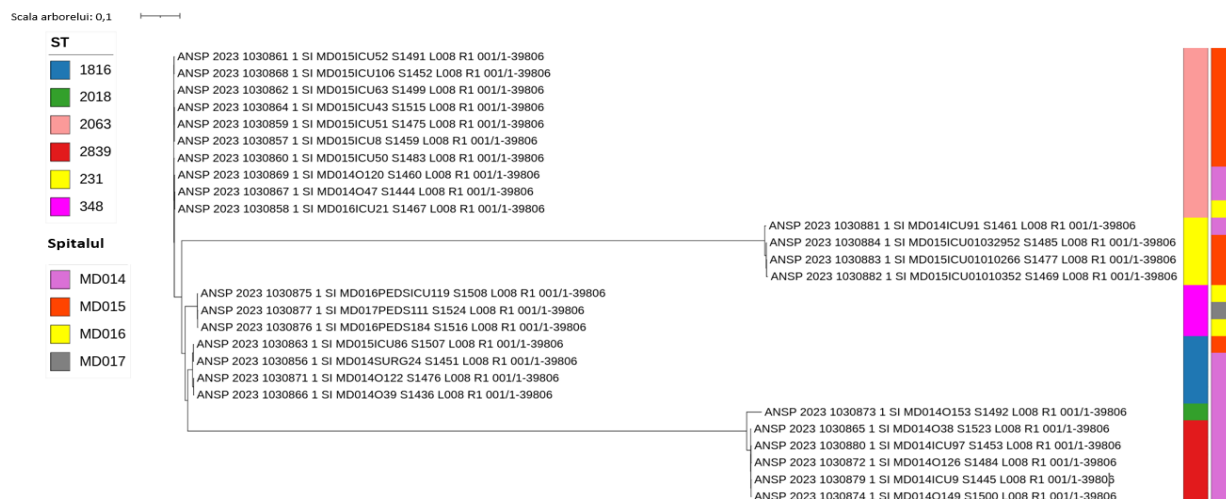


Figura 30. Arborele filogenetic al tulpinilor de *A. baumannii* construit pe baza SNP și asamblate după profilul MLST (MLST, iTOL)

S-a observat că primele izolate de *A. baumannii* ST2063 și *A. baumannii* ST2839 au apărut inițial în două instituții medicale: MD015A și MD014A. La finele studiului, analizând arborele filogenetic s-a constatat că *A. baumannii* cu cele 6 ST-uri au fost izolate din 4 instituții medicale: MD014A – 8 tulpini (ST2839 – 5 tulpini, ST1816 – 4 tulpini, ST2018 – 1 tulpină, ST231 – 1 tulpină, ST2063 – 2 tulpini), MD015A – 11 tulpini (ST2063 – 7 tulpini, ST231 – 3 tulpini, ST1816 – 1 tulpină), MD016A – 3 tulpini (ST348 – 2 tulpini, ST2063 – 1 tulpină) și o tulpină *A. baumannii* ST348 din instituția medicală MD017A (figura 30).

4.2. Elaborarea algoritmului metodologic de detectare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene

Analiza eficienței testelor utilizate pentru detectarea BLSE și a carbapenemazelor prin prisma acurateții exprimată prin specificitatea și sensibilitatea metodei a permis evidențierea celor mai utile teste în vederea furnizării rezultatelor corecte, care vor servi drept punct de reper pentru medicul clinician în luarea deciziilor terapeutice.

Pentru detectarea BLSE, cea mai mare specificitate și sensibilitate din cele trei metode fenotipice utilizate a prezentat-o testul discurilor combinate.

Un alt avantaj al acestui test este numărul mare de tulpini care pot fi testate concomitent, dar și faptul că este ușor accesibil și cost-eficient. Dezavantajul testului constă în timpul prelungit până la eliberarea rezultatului, de la 24 până la 48 de ore, comparativ cu timp de câteva minute pentru testele de determinare a carbapenemazelor.

Dintre testele de screening al tulpinilor producătoare de carbapenemaze evaluate, cea mai mare sensibilitate și specificitate a avut-o testul imunocromatografic RESIST-5 OKNVI. La acest avantaj se adaugă timpul relativ scurt până la obținerea rezultatelor în cazul tulpinilor producătoare de carbapenemaze (până la zece minute). Fiind un test comercial, este accesibil și ca preț.

Metoda PCR, considerată standardul de aur în detectarea RAM, are câteva limitări care împiedică implementarea acesteia pe larg laboratoare microbiologice din țară. Pe lângă echipamentul și reactivii costisitori, este necesar un personal specializat și bine instruit.

Luând în considerare eficacitatea metodelor analizate, precum și avantajele și dezavantajele acestora, a fost elaborat un algoritm metodologic de detectare a mecanismelor de RAM ilustrat pe figura 31.

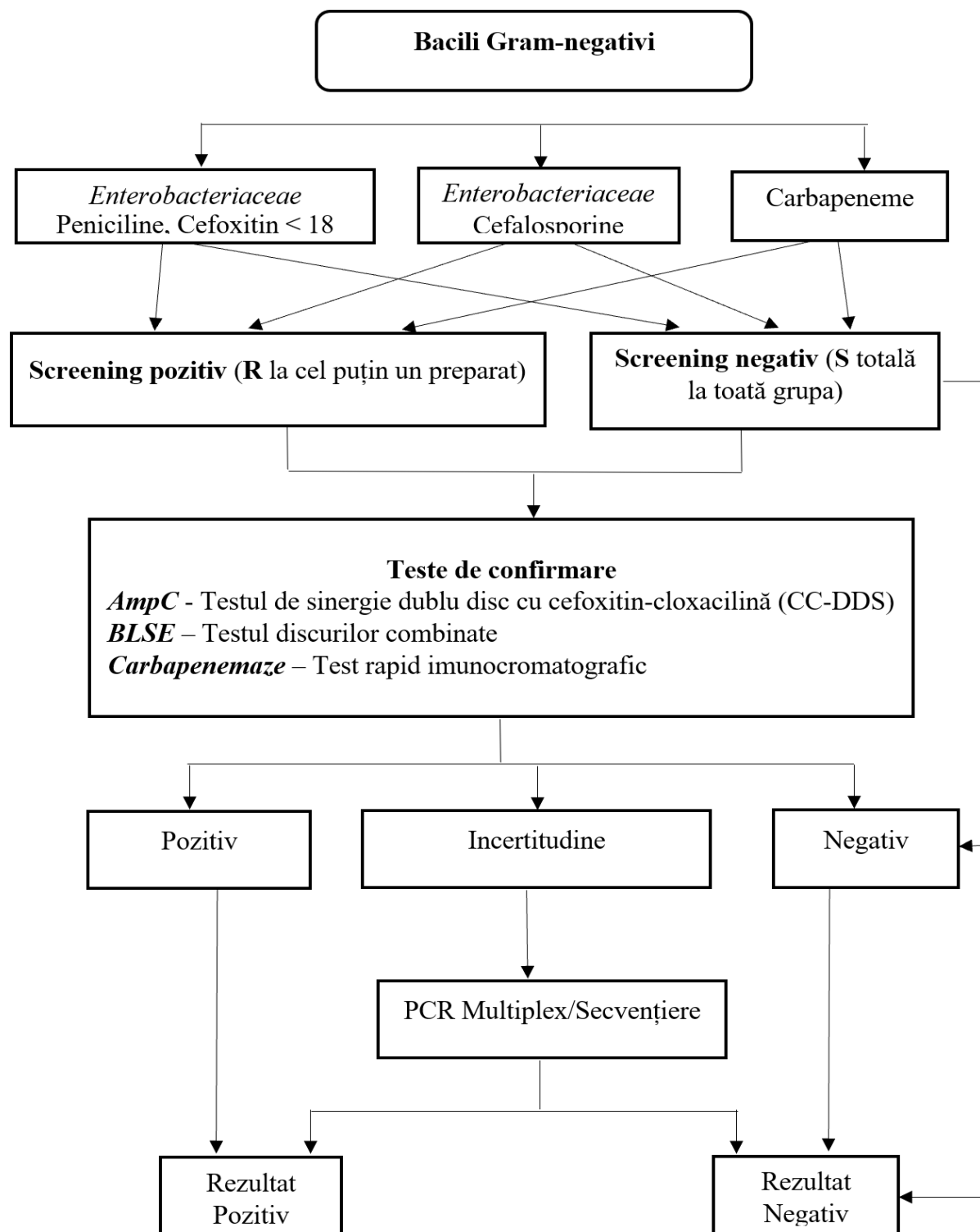


Figura 31. Algoritm de detectare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene a BGN

4.3. Concluzii la capitolul 4

1. Secvențierea genomului bacteriilor patogene MDR a permis stabilirea genotipurilor și grupurilor filogenetice ale BGN circulanți pe teritoriul țării.

2. În urma analizei rezultatelor secvențierii genomului bacteriilor patogene incluse în studiu au fost evidențiate principalele clustere, care includ tulpini asemănătoare genetic, și a fost stabilită răspândirea în instituțiile medicale a izolatelor rezistente și hipervirulente introduse pe teritoriul republicii.

3. Eșantionul tulpinilor cercetate include și tulpini înregistrate la nivel global, precum ST395 și ST23, dar și tulpini mai răspândite la nivel regional, cum ar fi ST377. Răspândirea acestor clone evidențiază necesitatea urgentă în strategii îmbunătățite de prevenire și control al infecțiilor în instituțiile medicale.

4. Diagnosticul la timp, controlul eficient al infecțiilor și administrarea argumentată a antibioticelor sunt cruciale pentru combaterea RAM, în special în mediul spitalicesc. Sprijinirea cercetării și supravegherii prin secvențierea întregului genom ajută la identificarea clonelor rezistente și hipervirulente, permițând realizarea măsurilor prompte de control al infecției pentru a preveni răspândirea în continuare a *Enterobacteriaceae* rezistente la carbapenem în Republica Moldova.

5. Evaluarea metodelor de testare a BGN a permis selectarea celor mai eficiente teste în vederea detectării cu acuratețe și în timp util a tipurilor de enzime de rezistență, incluzându-le într-un algoritm metodologic de determinare a rezistenței la antimicrobiene în funcție de posibilitățile laboratoarelor din țară.

DISCUȚII

Infecțiile cauzate de BGN sunt unele dintre cele mai răspândite infecții atât în comunitate cât și în mediul intraspitalicesc.

Creșterea în ultimul deceniu a RAM, în special la BGN amplifică motivele de îngrijorare a cercetătorilor din întreaga lume, în contextul în care eficiența terapiei și controlul infecțiilor determinate de aceste microorganisme este pusă în pericol [127].

Studiul dat s-a axat pe cercetarea rezistenței doar la BGN prioritari, dat fiind diseminarea rapidă și povara determinată de aceștia la nivel mondial. Răspândirea largă a BGN a fost demonstrată pe un eșantion de 3003 tulpini izolate în perioada 2020-2023, rezistente la cel puțin unul din preparatele beta-lactamine testate. Analiza rezultatelor a evidențiat prevalența *K. pneumoniae* cu cea mai mare rată de izolare dintre toate speciile, inclusiv și printre speciile izolate din IFS, în timp ce dintre izolatele din urină a predominat *E. coli*.

Distribuția tulpinilor de BGN în raport cu secția de internare a evidențiat o frecvență mai ridicată a izolării în secțiile de terapie intensivă, terapie intensivă pediatrică și chirurgie. Se conturează astfel o tendință comună tuturor speciilor, aceea de a predomina în unități care gestionează pacienți critici, cu infecții severe și comorbidități asociate unui statut imun compromis, tulpinile izolate în aceste secții fiind, de regulă, și cele mai rezistente.

Nivelele de rezistență înregistrate la tulpinile cercetate lasă motive întemeiate de alarmare. *K. pneumoniae* a prezentat rezistență îngrijorătoare la antibiotice, fiind într-o ascensiune constantă. Cele mai multe izolate s-au dovedit a fi rezistente la cefalosporine (93,9 %), dar și la carbapeneme această specie tinde să devină tot mai rezistentă (51,1 %), iar tulpini MDR de *K. pneumoniae* au constituit peste 70,0 %.

K. pneumoniae izolată din sânge este asociată cu rate ridicate de mortalitate la nivel mondial, iar dezvoltarea RAM complică gestionarea infecțiilor cauzate de aceste bacterii [50].

Apariția rezistenței la carbapeneme la BGN, inclusiv speciile *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii*, în ultimul deceniu a devenit o criză majoră de sănătate publică la nivel mondial, din cauza răspândirii rapide a acestora și a lipsei dezvoltării de noi preparate antimicrobiene.

Rezultatele cercetării au constatat nivele de rezistență foarte înaltă la speciile investigate, inclusiv și la preparatele de ultimă linie, în special la BGN nefermentativi. La carbapeneme 70,4 % din tulpinile de *P. aeruginosa* au fost rezistente, în timp ce izolatele de *A. baumannii* în 88,4 % au fost rezistente la carbapeneme, devenind tot mai rezistent la grupele de antimicrobiene și practic nu lasă soluții terapeutice pentru infecțiile determinate de acesta, de obicei în forme grave.

Odată cu capacitatea de producere a BLSE și a carbapenemazelor, rata globală de izolare a GNB rezistenți la betalactamine este în creștere.

BLSE, produse în special de BGN, mediază rezistența la o gamă largă de antibiotice β -lactamice, inclusiv cefalosporine cu spectru extins și monobactam aztreonam. Majoritatea genelor care codifică BLSE sunt purtate de elemente genetice mobile, facilitând răspândirea genelor de rezistență între bacterii.

Dintre toate tulpinile de *E. coli* investigate 90,1 % au fost producătoare de BLSE, comparativ cu *K. pneumoniae* (45,1 %). În schimb *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemaze a fost cea mai frecvent izolată printre speciile de BGN cercetate, enzima predominantă fiind OXA-48 – la 64,8 % tulpini, ca și în cazul izolatelor de *E. coli* (34,9 %).

Printre clusterelor observate în baza analizei datelor secvențierii genomilor tulpinilor cercetate s-au evidențiat *K. pneumoniae* cu tipul de secvență cel mai frecvent întâlnit ST395, *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST233 și *A. baumannii* ST2063. Analizând dinamica acestor izolate în perioada 2020-2023 s-a constatat că acestea s-au răspândit foarte rapid de la o instituție în care au fost identificate primar în 2020 până la 15 instituții medicale în 2023.

În rezultatul evaluării metodelor de diagnostic a mecanismelor de rezistență la microorganismele cercetate s-a determinat sensibilitate și specificitate mai înaltă pentru testul discurilor combinate (99,0 % și 98,9 %) de detectarea BLSE, iar pentru detectarea carbapenemazelor metoda imunocromatografică s-a dovedit a fi cea mai eficientă și accesibilă, cu sensibilitatea 86,2 % și specificitatea 91,7 %.

Cercetările la nivel internațional au constatat prevalența BGN implicați în patologia infecțioasă. Într-un studiu recent efectuat în China, BGN au reprezentat aproximativ 70 % din toate tulpinile izolate de la pacienți cu infecții ale tractului respirator, IFS și ITU [98].

Rezultatele studiului realizat atestă *K. pneumoniae* ca cel mai frecvent patogen implicat în IFS, ceea ce contravine cu rezultatele obținute în cadrul cercetării efectuate de Tang și colab. în 2023, în care cele mai frecvente specii de BGN izolate au fost *E. coli*, iar *K. pneumoniae* a fost cea mai frecventă specie izolată din tractul respirator [127].

Prevalența tulpinilor de *E. coli* izolate din urină constatată în studiului realizat a fost similară cu constatările numeroaselor cercetări naționale și internaționale, precum cele efectuate de Tang și colab. în 2023, Lu și colab., 2012, Gales și colab., 2012, Brink și colab., 2012, rezultatele cărora sugerează că *E. coli* a cauzat în principal ITU [127].

Datele obținute de Hafiz și colab., în cadrul cercetărilor din 2023, confirmă că peste 70 % din tulpinile de *K. pneumoniae* au fost izolate de la pacienții internați în secțiile de terapie

intensivă, fiind asociate cu factori de risc multipli, inclusiv RAM, ventilația mecanică, infecții respiratorii, disfuncția multi-organică, boala cardiacă ischemică și șocul septic [50].

Rezistența înaltă crescută a izolatelor din secțiile de terapie intensivă, chirurgie, departamentele de urgență poate fi o consecință a practicilor de administrare de doze mai mari pacienților în stare gravă în scopul salvării vieții pacienților, la care speciile circulante în mediul respectiv au dezvoltat rezistență [128,129].

Comparativ cu rezultatele obținute în cadrul actualei cercetări, dovezile obținute de Lee și colab., în 2021 evidențiază rate mult mai scăzute de rezistență a *K. pneumoniae* în Germania, Japonia și Canada (1,8 %, 1,3 % și 1,1 % respectiv), în timp ce rate mai înalte se atestă în India, Grecia și Argentina, cu 54,9 %, 53,6 % și, respectiv, 46,6 % [130].

În ultimii patru ani, Cipru, Grecia, Ungaria, Italia, Malta și România au raportat cele mai mari procente de rezistență la carbapenem la izolatele invazive de *K. pneumoniae* la EARS-Net. Cu excepția României, acest lucru este în concordanță cu rezultatele autoevaluărilor EuSCAPE privind răspândirea interregională (Ungaria) sau situația endemică (Grecia, Italia și Malta) în aceste țări [131].

Mai mulți autori au investigat modelul de rezistență la antibiotice a *P. aeruginosa*. Astfel, un studiu efectuat în Polonia a arătat o rată de rezistență de 67,8 % la imipenem. Adwan și colab. Într-un alt studiu efectuat în 2020 au constatat rate de rezistență la imipenem de 59,3 % și la meropenem de 48,0 %. În schimb, cercetările efectuate de Shbaita și colab. au evidențiat rate mai mari de susceptibilitate a *P. aeruginosa* la agenții antimicrobieni testați, 23,4 % tulpini fiind rezistente la meropenem și 22,4 % - la imipenem [132].

Nivele înalte de rezistență la *A. baumannii* au constatat și cercetările efectuate în Polonia (56,5 %) și Grecia (61,8 %), iar până la 100 % tulpini multirezistente au fost înregistrate în America Centrală, Pakistan, Liban, Qatar și Croația. Prevalența globală a tulpinilor de *A. baumannii* multirezistente este estimată la 79,9 % [133,134], comparativ cu 99,1 % *A. baumannii* MDR constatată în studiul dat. Modelele de rezistență la carbapenem diferă în țările europene, incidența crescută a izolatelor de *A. baumannii* rezistente la carbapenem fiind observată în Europa de Nord și de Est [133,135,136].

Exemplul de răspândire a producătorilor de BLSE în comunitate în ultimii 10 ani ne arată că o rată ridicată de producători de carbapenemază în *E. coli* poate fi atinsă rapid la nivel mondial și spre deosebire de o epidemie virală, nu se poate opri spontan, fiind greu de controlat [137].

Prevalența tulpinilor producătoare BLSE diferă substanțial, în funcție de țară, în Franța fiind estimată la 3 % - 5 % *E. coli* producătoare de BLSE, în timp ce în India >80 % [137].

Mai multe studii internaționale au raportat o creștere a prevalenței producției de BLSE în rândul izolatelor clinice, ajungând la aproximativ 74 % în unele țări [138,139,140].

Un studiu realizat de către Al-Agamy și colab. a demonstrat prevalența producerii de BLSE la izolatele de *E. coli*, urmate de *K. pneumoniae* [141].

Producția de carbapenemaze la Enterobacterales este cel mai îngrijorător mecanism de rezistență la carbapeneme, având în vedere transmiterea și diseminarea ușoară a acestor gene [142].

O posibilă epidemie ar putea fi cauzată în principal de *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemază în de toate tipurile (KPC, IMP, VIM, NDM și OXA-48). Unele țări raportează deja rate mari de microorganisme producătoare de diferite tipuri de carbapenemază, precum, în Grecia (VIM și KPC) și subcontinentul indian (NDM, KPC, OXA-181) [137].

KPC este carbapenemaza dominantă la *K. pneumoniae*, devenind din ce în ce mai răspândită în toată Europa [143,144].

Un alt studiu efectuat în China de către Chen și colab. a evidențiat prevalența tipului de carbapenemază KPC-2 la *Enterobacteriaceae*, în special la *K. pneumoniae* rezistentă la carbapeneme [98]. Rezultate similare a obținut și Urzua-Abad și colab. într-un studiu efectuat în Mexico în 2024, unde la 55,0 % din Enterobacterales a fost detectată gena *blaKPC*. În schimb, o altă cercetare efectuată într-un spital din Brazilia a evidențiat gena *blaKPC* la 20 % din Enterobacterales [145].

Rezultate similare cu cele obținute în studiul nostru au fost obținute în cercetările efectuate în spitalele din Algeria, unde gena *blaOXA-48* a fost cel mai important mediator al rezistenței la carbapenem la *Enterobacteriaceae* [146,147].

Prevalența genei *blaNDM* la *Enterobacteriaceae* a fost constatată în studiile efectuate de Elrahem și colab., 2023, în Egipt, constatare confirmată într-un studiu de 2 ani concentrat pe tulpini din familia *Enterobacteriaceae* din 40 de țări, în care *blaNDM* a fost cea mai comună genă detectată (36,8 %). Într-un alt studiu transversal desfășurat la Spitalul Tikur Anbessa, Addis Abeba din Etiopia, din 39 de izolate *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemază, *blaNDM* a fost gena cea mai dominantă (92,9 %) [148,149,150], în cercetarea respectivă această genă fiind detectată a doua ca prevalență la tulpinile de *Enterobacteriaceae* cercetate, după *blaOXA-48*.

Rapoartele ECDC evidențiază predominanța tulpinilor de *K. pneumoniae* producătoare de NDM în România și Turcia, KPC - în Spania, iar în Serbia –OXA-48 [131].

Într-un studiu recent pe un esantion de 229 de tulpini de *E. coli* producătoare de carbapenemază din 36 de țări cele mai frecvente gene care codifică carbapenemază au fost *blaOXA-181* (23 %), urmate de *blaNDM-5* (20 %), *blaKPC* (18 %) și *blaNDM-1* (10 %) [150]. Aceste rezultate contravin cu cele constatate de Garza-Ramos și colab., unde majoritatea tulpinilor

au purtat *bla*NDM-5 (80 %), urmate de *bla*OXA-232 (12 %) și *bla*NDM-1 (4 %). Aceste diferențe pot fi explicate prin numărul de tulpini analizate și varietatea diferită de locații incluse în ambele studii [151].

P. aeruginosa a fost cel mai frecvent producătoare de IMP (57,4 %) în studiul efectuat de Li și colab., în China, ceea ce contravine rezultatelor din această cercetare în care enzima cea mai frecvent detectată la această specie a fost NDM (42,0 %) [152].

Conform rezultatelor studiului efectuat de Beig și colab. în 2023 *bla*NDM și *bla*OXA-58 au fost genele cele mai răspândite în plasmide și cromozomi la speciile de *A. baumannii* [153]. Aceeași tendință a fost observată și în studiul lui Monnheimer și colab. care au arătat că cele mai frecvente carbapenemaze produse de *A. baumannii* erau codificate de aceste gene (Monnheimer et al., 2021). Constatările acestor studii contravine cu rezultatele cercetării respective, gena cel mai frecvent întâlnită la această specie fiind *bla*OXA-23, urmată de *bla*OXA-40.

În studiul efectuat de Garza-Ramous și colab. în 2023, cel mai frecvent tip de secvență la *K. pneumoniae* a fost ST1876 ($n = 8$), urmat de ST307 ($n = 6$) și ST4839 ($n = 5$). În contrast, *K. pneumoniae* ST307 este o clonă potențială epidemică, implicată în mai multe focare [154,155] și a fost descrisă ca purtând gene asociate cu rezistența la carbapenem, inclusiv *bla*KPC-3 și *bla*NDM-1 [151,156,157].

Potrivit ECDC au fost observate unele modificări în prevalența *K. pneumoniae* ST307 în diferite țări, crescând în Italia, România și Spania, iar ST14 a fost predominantă în Turcia [131].

Printre izolatele de *E. coli* cercetate într-un studiu din Franța, cele mai frecvente tipuri de secvență au fost *E. coli* ST2 și ST167 [158]. ST2 a fost tipul de secvență predominant și în cercetarea lui Mamami și colab. în Spania [159].

A. baumannii ST2 a fost raportat ca fiind predominant în Germania [160], precum și într-un studiu anterior la un spital de nivel terțiar din Mexic [161].

P. aeruginosa are o structură nonclonală și epidemică și, din acest motiv, încercările de a deduce relațiile dintre tulpini sunt lipsite de sens, cu excepția celor mai înrudite grupuri. În plus, a fost raportată o mare diversitate de ST, cu distribuție atât în surse clinice, cât și de mediu. În cercetarea lui Garza-Ramos și colab., dintre cele 13 tulpini secvențiate, au fost detectate 11 tipuri de secvență diferite (ST111, ST244, ST260, ST274, ST309, ST983, ST1487, ST2235, ST2348, ST2731 și ST3579) [151].

Expansiunea rapidă și globală a BGN rezistente la carbapenem în ultimul deceniu este o tendință îngrijorătoare și o amenințare la adresa asistenței medicale și a siguranței pacienților în Europa și la nivel global [162]. Consecințele pentru pacienții infectați cu aceste bacterii sunt mai puține opțiuni de tratament și creșterea morbidității și mortalității [163,164]. Având în vedere că

există puțini agenți antimicrobieni noi disponibili pentru utilizare clinică pe termen scurt și mediu, riscurile pentru sănătatea publică nu sunt greu de înțeles [165].

Pentru a monitoriza evoluția clonală și extinderea geografică în timp, implementarea de noi instrumente precum secvențierea întregului genom bacterian este esențială. Caracterizarea izolatelor rezistente la carbapenem este cheia pentru controlul infecțiilor, datorită impactului lor asupra deciziilor terapeutice din clinici, prin urmare, detectarea de laborator care oferă o acuratețe ridicată și un diagnostic rapid este cheia pentru administrarea corectă a antibioticelor.

CONCLUZII GENERALE

1. Evaluarea pattern-urilor de rezistență a BGN incluși în studiu ($n=3003$) a evidențiat nivele de rezistență înalte și foarte înalte la antimicrobienele utilizate. *A. baumannii*, s-a dovedit a fi multirezistent în 99,1 % (Î 95 %, 96,3-100), inclusiv 88,4 % (Î 95 %, 85,6-93,9) cu rezistență la carbapeneme și peste 90 % la celelalte grupe de preparate. *P. aeruginosa* în 70,4 % (Î 95 %, 63,6-79,5) au fost rezistente la carbapeneme, *K. pneumoniae* în 93,9 % (Î 95 %, 85,6-93,9) – la cefalosporine și 88,6 % (Î 95 %, 85,9-94,2) – la peniciline. Nivele de rezistență statistic semnificative mai mari au prezentat izolatele din sânge și LCR comparativ cu cele din urină, colectate de la pacienții din terapie intensivă și chirurgie, în comparație cu celelalte secții.
2. Din cele 3003 tulpini de BGN cercetate, la 87,2 % (Î 95 %, 81,4-92,8) s-a detectat cel puțin un mecanism de rezistență la preparatele antimicrobiene. Producerea de BLSE a fost confirmată la 90,3 % (Î 95 %, 88,0-92,0) izolate de *E. coli*, iar producerea carbapenemazelor cel mai frecvent a fost detectată la *K. pneumoniae* – 96,9 % (Î 95 %, 95,0-98,0), enzima predominantă la ambele specii fiind OXA-48. *P. aeruginosa* cel mai frecvent a fost producătoare de betalactamaza NDM și *A. baumannii* – de OXA-23. Rezistența semnificativ statistic mai mare a fost depistată la tulpinile de *K. pneumoniae* și *P. aeruginosa*, care au produs 2 și 3 tipuri de carbapenemaze.
3. Analiza arborelui filogenetic a tulpinilor secvențiate au evidențiat principalele clusteruri cu cele mai frecvente ST la speciile circulante în teritoriul țării: ST131 în 47,1 % tulpini de *E. coli*, ST395 în 56,6 % tulpini de *K. pneumoniae*, ST2063 în 37,0 % tulpini de *A. baumannii*. Urmărind răspândirea fenomenului de rezistență, inițial s-a depistat 8 tulpini cu tipurile de secvență menționate în 4 instituții medicale, iar peste 3 ani – 26 tulpini în diferite secții a 14 instituții medicale din țară.
4. Evaluarea testelor fenotipice montate pentru detectarea mecanismelor de rezistență, a demonstrat sensibilitate și specificitate mai mare pentru testul discurilor combinate (99,0 % și, respectiv 98,9 %) în detectarea BLSE, fără diferențe statistic semnificative față de celelalte teste efectuate ($p \geq 0.001$) metoda imunocromatografică (86,2 % și, respectiv 91,7 %) pentru detectarea carbapenemazelor, cu o diferență statistic semnificativă comparativ cu celelalte teste utilizate ($p \leq 0.001$).
5. Analiza metodelor fenotipice de detectare a mecanismelor de rezistență, comparativ cu metodele de biologie moleculară (PCR, secvențiere), drept standard de aur a permis elaborarea algoritmului standardizat cu selectarea celor mai eficiente metode, ținând cont de cost eficiență, timp și posibilitățile laboratoarelor din țară.

6. Monitorizarea profilurilor de rezistență a BGN implicați în patologia infecțioasă este indispensabilă în vederea evaluării răspândirii RAM și identificării alternativelor noi în domeniul terapiei antimicrobiene precum și pentru implementarea măsurilor naționale de reducere a acestui fenomen, ceea ce indică necesitatea creării unui sistem eficace de supraveghere și control.

RECOMANDĂRI

1. Colaborarea eficientă între medicii clinicieni și specialiștii de laborator în vederea alegerii testului potrivit, interpretării rezultatelor în scopul ghidării terapiei antimicrobiene adecvate.
2. Actualizarea și adaptarea ghidurilor și protocoalelor clinice naționale și îmbunătățirea strategiilor de control a RAM.
3. Implementarea programelor de stewardship antimicrobian în instituțiile medico-sanitare din țară.
4. Implementarea algoritmului de detectare a mecanismelor de rezistență a BGN nou elaborat în baza rezultatelor cercetării în vederea obținerii unor date de calitate în supravegher a RAM.
5. Monitorizarea tulpinilor hipervirulente și investigarea focarelor de IAAM în scopul determinării sursei de infecție și transmiterea acestora în cadrul instituțiilor medicale.
6. Utilizarea datelor obținute în cadrul cercetării pentru consolidarea Programului național pentru supravegherea și combaterea rezistenței antimicrobiene pentru anii 2023-2027, inclusiv analiza indicatorilor de evaluare a progreselor în domeniu.

SUGESTII PRIVIND CERCETĂRI DE PERSPECTIVĂ

1. Cercetarea determinantilor genetici ai infecțiilor asociate asistenței medicale prin metode microbiologice.
2. Impactul economic al infecțiilor determinate de BGN rezistenți la antimicrobiene în RM și perspective.
3. Studiarea întregului genom și analiza filogenetică a BGN (*Salmonella* spp., *E. coli*) implicate în patologia boli diareice acute și dezvoltarea focarelor.
4. Evaluarea consumului antimicrobian în instituțiile medicale cu corelarea dezvoltării mecanismelor de rezistență a microorganismelor circulante
5. Evaluarea consumului de antimicrobiene în cadrul instituțiilor medicale în corelare cu dezvoltarea microorganismelor multirezistente
6. Determinarea factorilor de virulență microbială și predicția evoluției rezistenței la antimicrobiene.

BIBLIOGRAFIE

1. Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404(10459):1199-1226. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1.
2. Dunachie SJ, Day NP, Dolecek C. The challenges of estimating the human global burden of disease of antimicrobial resistant bacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2020;57:95-101. doi:10.1016/j.mib.2020.09.013.
3. **Anton (Bivol) M**, Pantea L, Burduniuc (Popa) O, et al. Evaluation of costs related to antimicrobial resistance of priority Gram-negative bacilli. *One Health Risk Manag*. 2024;5(1):43-50. doi:10.38045/ohrm.2024.1.06.
4. Pantea L, Croitoru C, Burduniuc (Popa) O. Impactul economic al rezistenței antimicrobiene în perspectiva abordării One Health. În: *Știință, educație, cultură*. 2023; 1:75-80. ISBN: 978-9975-83-254-0.
5. Pantea L, Croitoru C, Burduniuc O, Balan G, **Anton M**. Features of the economic impact of antimicrobial resistance elucidated in scientific publications. *Arta Medica*. 2023;4(89):35-45. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429356>.
6. Bassetti M, Kanj SS, Kiratisin P, et al. Early appropriate diagnostics and treatment of MDR Gram-negative infections. *JAC Antimicrob Resist*. 2022;4(5):dlac089. doi:10.1093/jacamr/dlac089.
7. World Health Organization. Antimicrobial resistance. 2021. Disponibil la: <https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
8. Bucov V, Burduniuc O, Balan G, Grumeza M, Craciun O, **Anton (Bivol) M**. Rezistența la antimicrobiene. Caracteristica rezistenței la preparate antimicrobiene a bacteriilor gram-negative. *Sănătate Publică Economie și Management în Medicină*. 2021;1(89):50-56. ISSN 1729-8687.
9. Masia MD, Dettori M. Antimicrobial Resistance, Healthcare-Associated Infections, and Environmental Microbial Contamination. *Healthcare (Basel)*. 2022;10(2):242. doi:10.3390/healthcare10020242.
10. Hormozi SF, Vasei N, Aminianfar M, et al. Antibiotic resistance in patients suffering from nosocomial infections in Besat Hospital. *Eur J Transl Myol*. 2018;28(3):7594.
11. Moraru A, Pântea V, Cebotarescu V, et al. Rezistența antimicrobiană la pacienții internați în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Toma Ciorbă” (anii 2011–2015). *Obshchestvennoe Zdorov’e Ekonomika i Menedzhment v Meditsine*. 2017;3(73):25-27. ISSN 1729-8687.
12. Elshamy AA, Aboshanab KM. A review on bacterial resistance to carbapenems: epidemiology, detection and treatment options. *Future Sci OA*. 2020;6(3):FSO438. doi:10.2144/fsoa-2019-0098.
13. Behta E, Burduniuc O, Bucova V, Crăciun O, **Anton (Bivol) M**, et al. Antimicrobial discovery – impact of natural sources. *Stud Univ Moldav Ser Științe Reale ale Naturii*. 2020;4(131):263-278. ISSN 1814-3237; ISSN online 1857.
14. **Anton M**, Tapu L, Balan G, et al. Evaluarea pattern-urilor de rezistență a bacililor gram-negativi prioritari izolați din biosubstrate clinice. *Arta Medica*. 2023;89(4):67-71. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429464>.
15. Burnham CA, Leeds J, Nordmann P, et al. Diagnosing antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15:697–703. doi:10.1038/nrmicro.2017.103.
16. **Anton M**, Burduniuc A, Croitoru C, Behta E, Balan G. Rezistența la antimicrobiene a *E. coli* și *K. pneumoniae* izolate de la pacienți cu infecții ale tractului urinar. *Sănătate Publică Economie și Management în Medicină*. 2023;4(97):145-149. doi:10.52556/2587-3873.2023.4(97).25.
17. Balan G, Sofronie O, Rusu IF, Tapu L, Burduniuc (Popa) O. Mecanisme de rezistență la antimicrobiene caracteristice bacililor gram-negativi de importanță clinică. *Akademios*. 2022;4(67):34-42. doi:10.52673/18570461.22.4-67.04.

18. Oliveira J, Reygaert WC. Gram-Negative Bacteria [Internet]. StatPearls. 2024. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213/>
19. Saif ul Islam. Gram-negative bacteria. *Developments in Microbiology*. 2023;63-118. doi:10.1016/B978-0-443-18742-1.00026-9.
20. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. The problem of multidrug resistance in Gram-negative bacilli in intensive care units: treatment and prevention strategies. *Med Intensiva (Engl Ed)*. 2022;46(6):326-335. doi:10.1016/j.medine.2022.04.006.
21. **Anton (Bivol) M**, Țapu L, Burac O, Lozneau I, Burduniuc (Popa) O. Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolated from invasive infections. *Rev Științ Sănătate Moldova*. 2022;1(29):126. ISSN 2345-1467.
22. Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale. OMS publică lista bacteriilor pentru care sunt necesare urgent noi antibiotice. Disponibil la: <https://amdm.gov.md/public/ru/news/oms-publica-lista-bacteriilor-pentru-care-sunt-necesare-urgent-noi-antibiotice>
23. Vargas MNI, Franco B. Escherichia coli as a model organism and its application in biotechnology [Internet]. IntechOpen; 2017. doi:10.5772/67306.
24. Basavaraju M, Gunashree BS. Escherichia coli: An overview of main characteristics [Internet]. IntechOpen; 2023. doi:10.5772/intechopen.105508.
25. Idalia VN, Bernardo F. Escherichia coli as a model organism and its application in biotechnology. In: Samie A, editor. *Escherichia coli. Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*. <https://www.intechopen.com/chapters/53916> London: IntechOpen; 2017. doi:10.5772/67306.
26. Bonnet M, Lagier JC, Raoult D, Khelaifia S. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: Evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infect*. 2019;34:100622. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>.
27. Sora VM, Meroni G, Martino PA, et al. Extra-intestinal pathogenic Escherichia coli: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*. 2021;10(11):1355. DOI: 10.3390/pathogens10111355
28. Hemm MR, Weaver J, Storz G. Escherichia coli small proteome. *EcoSal Plus*. 2020;9(1):10. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0031-2019.
29. Sarowska J, Futoma-Kołoch B, Jama-Kmiecik A, et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. *Gut Pathog*. 2019;11:10. doi: 10.1186/s13099-019-0290-0.
30. NCBI Bookshelf. FAQ: E. coli—Good, Bad, & Deadly. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562895>
31. Timofeeva A, Galyamova M, Krivosheev D, et al. Investigation of antibiotic resistance of E. coli associated with farm animal feces with participation of citizen scientists. *Microorganisms*. 2024;12:2308. doi:10.3390/microorganisms12112308.
32. Ahumada-Santos YP, Báez-Flores ME, Díaz-Camacho SP, et al. Association of phylogenetic distribution and presence of integrons with multidrug resistance in Escherichia coli isolates from children with diarrhoea. *J Infect Public Health*. 2020;13:767-772. doi: 10.1016/j.jiph.2019.11.019.
33. Stenutz R, Weintraub A, Widmalm G. The structures of Escherichia coli O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev*. 2006;30(3):382-403. doi:10.1111/j.1574-6976.2006.00016.x.
34. Neupane A, Parajuli P, Bastola R, Paudel A. Bacterial etiology of diarrhoeal disease in children and antibiogram of isolates. *Clin Microbiol*. 2017;6:278. doi:10.4172/2327-5073.1000278.

35. Ochońska D, Brzychczy-Włoch M. *Klebsiella pneumoniae*—taxonomy, occurrence, identification, virulence factors and pathogenicity. *Adv Microbiol.* 2024;63(3):157-175. DOI:10.2478/am-2024-0014.
36. Bengoechea JA, Sa Pessoa J. *Klebsiella pneumoniae* infection biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2019;43(2):123-144. doi: 10.1093/femsre/fuy043.
37. Wyres KL, Lam MM, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18:344-359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.
38. Lam MCL, Watts SC, Cerdeira LT, et al. Genomic surveillance framework for *K. pneumoniae*. *Nat Commun.* 2021;12:1-16. doi: 10.1038/s41467-021-24448-3.
39. Ali S, Alam MM, Hasan GM, Hassan MI. Potential therapeutic targets of *K. pneumoniae*: A multi-omics review. *Brief Funct Genomics.* 2022;21:63-77. doi: 10.1093/bfpg/elab038.
40. Szewczyk EM. Diagnostyka bakteriologiczna. Warszawa: PWN; 2019. ISBN. 978-83-01-20550-8.
41. Centeleghe I, Norville P, Hughes L, Maillard JY. *K. pneumoniae* survives on surfaces as a dry biofilm. *Am J Infect Control.* 2023;51:1157-1162. doi: 10.1016/j.ajic.2023.02.009.
42. Horng YT, Panjaitan NSD, Tsai YY, et al. Role of EII complex in glucose-survey response in *K. pneumoniae*. *PLoS One.* 2023;18:e0289759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289759>.
43. Murray PP, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8th ed. Elsevier; 2022. ISBN: 9780323359528.
44. de Souza Santos Monteiro A, Cordeiro SM, Reis JN. Virulence factors in *Klebsiella pneumoniae*: A literature review. *Indian J Microbiol.* 2024;64:389-401. doi: 10.1007/s12088-024-01247-0.
45. Choi M, Tennan SM, Nkeze J, et al. Diversity of LPS (O) and capsular (K) antigens in invasive *K. pneumoniae*. *Front Microbiol.* 2020;11:1-12. DOI:10.3389/fmicb.2020.01249.
46. Farzand R, Rajakumar K, Barer MR, et al. Siderophore importer reduces antimicrobial susceptibility in *K. pneumoniae*. *Front Microbiol.* 2021;12:1-9.
47. Chhabra R, Saha A, Chamani A, et al. Iron pathways and chelation in infections. *Pharmaceuticals.* 2020;13:1-23. <https://doi.org/10.3390/ph13100275>.
48. Guerra MES, Destro G, Vieira B, et al. *K. pneumoniae* biofilms and disease pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:877995. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.877995>.
49. Rahmat Ullah S, Jamal M, Rahman A, et al. Insights into *K. pneumoniae* epidemiology and resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2024;79(7):1484-1492. doi: 10.1093/jac/dkae184.
50. Hafiz TA, Alanazi S, Alghamdi SS, et al. *K. pneumoniae* bacteraemia epidemiology in Saudi Arabia. *BMC Infect Dis.* 2023;23:579. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08563-8>.
51. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection and accessory genome of *K. pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
52. Bălan G. Formarea biofilmelor *P. aeruginosa* și asocierea cu rezistența antimicrobiană. *Rev [titlu necunoscut]*. 2019;4(82):276-280. <https://cyberleninka.ru/article/n/formarea-biofilmelor-in-vitro-de-c-tre-tulpinile-de-pseudomonas-aeruginosa-i-asocierea-acestora-cu-rezisten-a-antimicrobian>
53. Xu J, Zhao Z, Ge Y, He F. Rapid emergence of a pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolate in an inpatient in a teaching hospital in China after treatment with multiple broad-spectrum antibiotics. *Infect Drug Resist.* 2020;13. doi:10.2147/IDR.S243334.
54. Diggle SP, Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading).* 2021;167(8). doi:10.1099/mic.0.001073.
55. Freschi L, Vincent AT, Jeukens J, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* pan-genome provides new insights on its population structure, horizontal gene transfer, and pathogenicity. *Genome Biol Evol.* 2019;11:109–20. doi:10.1093/gbe/evy259.

56. Labauve A, Wargo M. Growth and laboratory maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protoc Microbiol*. 2012;6:Unit 6E.1. doi:10.1002/9780471729259.mc06e01s25.
57. Chen KZM, Vu LM, Vollmer AC. Cultivation in long-term simulated microgravity is detrimental to pyocyanin production and subsequent biofilm formation ability of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Spectr*. 2024;3;12(10):e0021124. doi:10.1128/spectrum.00211-24.
58. Kirienko NV, Ausubel FM, Ruvkun G. Mitophagy confers resistance to siderophore-mediated killing by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(6):1821–1826. doi:10.1073/pnas.1424954112.
59. University of Chicago Medical Center. Research could lead to new non-antibiotic drugs to counter hospital infections. Press release. 2009 Apr 14. Archived 2022 Jun 25. Retrieved 2022 Jun 26. Disponibil la : <https://www.sciencedaily.com/releases/2009/04/090408145546.htm>
60. Das T, editor. *Pseudomonas aeruginosa – Biofilm Formation, Infections and Treatments*. London: IntechOpen; 2021. doi:10.5772/intechopen.87468.
61. Thi MT, Wibowo D, Rehm BH. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):8671. doi:10.3390/ijms21228671.
62. Muggeo A, Coraux C, Guillard T. Current concepts on *Pseudomonas aeruginosa* interaction with human airway epithelium. *PLoS Pathog*. 2023;19:e1011221. doi:10.1371/journal.ppat.1011221.
63. Caffrey AR, Appaneal HJ, Liao JX, et al. Treatment heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Antibiotics*. 2022;11:1033. doi:10.3390/antibiotics11081033.
64. Elfadadny A, Ragab RF, AlHarbi M, et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Front Microbiol*. 2024;15:1374466. doi:10.3389/fmicb.2024.1374466.
65. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012;3(3):243–50. doi:10.4161/viru.19700.
66. Whiteway C, Breine A, Philippe C, Van der Henst C. *Acinetobacter baumannii*. *Trends Microbiol*. 2022;30(2):199–200. doi:10.1016/j.tim.2021.11.008.
67. Lucidi M, Visaggio D, Migliaccio A, Capecchi G, Visca P, et al. Pathogenicity and virulence of *Acinetobacter baumannii*: factors contributing to the fitness in healthcare settings and the infected host. *Virulence*. 2024;15(1):2289769. doi:10.1080/21505594.2023.2289769.
68. Sarshar M, Behzadi P, Scribano D, et al. *Acinetobacter baumannii*: an ancient commensal with weapons of a pathogen. *Pathogens*. 2021;10(4):387. doi:10.3390/pathogens10040387.
69. Migliaccio A, Bray J, Intoccia M, et al. Phylogenomics of *Acinetobacter* species and analysis of antimicrobial resistance genes. *Front Microbiol*. 2023;14:1264030. doi:10.3389/fmicb.2023.1264030.
70. Benoit T, Cloutier M, Schop R, Lowerison MW, Khan IUH. Comparative assessment of growth media and incubation conditions for enhanced recovery and isolation of *Acinetobacter baumannii* from aquatic matrices. *J Microbiol Methods*. 2020;176:106023. doi:10.1016/j.mimet.2020.106023.
71. Geisinger E, Huo W, Hernandez-Bird J, et al. *Acinetobacter baumannii*: envelope determinants that control drug resistance, virulence, and surface variability. *Annu Rev Microbiol*. 2019;73:481–506. doi:10.1146/annurev-micro-020518-115714.
72. Herrera CM, Voss BJ, Trent MS. Homeoviscous adaptation of the *Acinetobacter baumannii* outer membrane: alteration of lipooligosaccharide structure during cold stress. *mBio*. 2021;12(4):e0129521. doi:10.1128/mBio.01295-21.
73. Wyres KL, Cahill SM, Holt KE, et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* loci for capsular polysaccharide (KL) and lipooligosaccharide outer core (OCL) synthesis in genome assemblies using curated reference databases compatible with Kaptive. *Microb Genom*. 2020;6(3):e000339. doi: 10.1099/mgen.0.000339.

74. Pakharukova N, Malmi H, Tuittila M, et al. Archaic chaperone-usher pili self-secrete into superelastic zigzag springs. *Nature*. 2022;609(7926):335-340. doi: 10.1038/s41586-022-05095-0.
75. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(2):105-114. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.10.004.
76. Etebu E, Arikekpar I. Antibiotics: classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res*. 2016;4:90-101. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:40048022>.
77. Pham TDM, Ziora ZM, Blaskovich MAT. Quinolone antibiotics. *Med Chem Commun*. 2019;10(10):1719-1739. doi:10.1039/C9MD00120D.
78. Aranda F, Rivas B. Removal of amoxicillin through different methods, emphasizing removal by biopolymers and its derivatives: an overview. *J Chil Chem Soc*. 2022;67:5643-5655. doi:10.4067/S0717-97072022000305643.
79. Revuelta J, Bastida A. Aminoglycoside antibiotics. *Developments in Microbiology*. 2023:123-153. doi:10.1016/B978-0-323-95388-7.00018-8.
80. Obasi N, Uchechukwu O, Al-Swaidan I, et al. Synthesis, characterization and antibacterial studies of N-(benzothiazol-2-yl)-4-chlorobenzenesulphonamide and its neodymium(III) and thallium(III) complexes. *Molecules*. 2017;22(3). doi:10.3390/molecules22020153.
81. van Groesen E, Innocenti P, Martin NI. Recent advances in the development of semisynthetic glycopeptide antibiotics: 2014–2022. *ACS Infect Dis*. 2022;8(8):1381-1407. doi:10.1021/acsinfecdis.2c00253.
82. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 73949: Oxazolidinones. Disponibil la: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oxazolidinones>
83. Collet JF, Cho SH, Iorga BI, Goemans CV. How the assembly and protection of the bacterial cell envelope depend on cysteine residues. *J Biol Chem*. 2020;295:11984-11994. doi: 10.1074/jbc.REV120.011201.
84. Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*. 2020;25(6):1340. doi:10.3390/molecules25061340.
85. Yihunie BW, Melese G, Addis TB, et al. Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review. *Front Pharmacol*. 2024;15. doi:10.3389/fphar.2024.1444781.
86. Lutgring JD. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: an emerging bacterial threat. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36:182-186. doi:10.1053/j.semdp.2019.04.011.
87. Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: a critical review. *Gene Funct Dis*. 2019;6:109-119. doi:10.1016/j.gendis.2019.04.001.
88. Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care*. 2020;8:13. doi:10.1186/s40560-020-0429-6.
89. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report. 2022 Dec 9. Disponibil la: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>
90. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023–2021. 2023. Disponibil la: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data>
91. Ungureanu V. Rezistența la antibiotice – mecanisme, cauze și măsuri de prevenire și combatere. *Medic.ro*. 2024. doi:10.26416/Med.160.4.2024.10042.

92. World Health Organization. Antimicrobial resistance: fact sheet. Disponibil la: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
93. World Health Organization. Assessing non-prescription and inappropriate use of antibiotics: report on survey. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2019. Disponibil la: <http://www.euro.who.int/en/publications/abstracts/assessing-non-prescription-and-inappropriate-use-of-antibiotics-2019>
94. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Antibiotic resistance threats in the United States. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services; 2019. Disponibil la: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>. Accessed 2020 Nov 19.
95. Ziua Europeană a Informării despre Antibiotice (ZEIA) – 2019. Analiza de situație. Disponibil la: <https://www.dspsv.ro/uploads/PromovareaSanatatii/Antibiotice%202019/Analiza%20de%20situație%20-%20Ziua%20European%C4%83%20a%20Inform%C4%83rii%20despre%20Antibiotice.pdf>.
96. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance Atlas of Infectious Diseases. 2023. Disponibil la: <https://www.ecdc.europa.eu/en/surveillance-atlas-infectious-diseases>.
97. Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: detection and antimicrobial therapy. *Front Microbiol.* 2019;10. doi:10.3389/fmicb.2019.01823.
98. Chen Q, Li D, Beiersmann C, Neuhaus F, et al. Risk factors for antibiotic resistance development in healthcare settings in China: a systematic review. *Epidemiol Infect.* 2021;149:e141. doi:10.1017/S0950268821001254.
99. Croitoru C, Burduniuc (Popa) O, Balan G. Sintează narativă: asocierea dintre rezistența la antimicrobiene cu implicațiile microorganismelor Gram-negative și schimbările climatice. *One Health Risk Manag.* 2023;2(S_Rez Suppl 1):93-101. doi:10.38045/ohrm.2023.SE.01.
100. Anton M, Iaconi OS, Perjeru M, Ceban V, Beleacov E, Burduniuc O. Knowledge, attitudes and behaviors of the population of Chisinau municipality regarding the use of antibiotics. *Mold J Health Sci.* 2025;12(1):35-40. doi:10.52645/MJHS.2025.1.06.
101. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022;399(10325):629-655. doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
102. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022;399(10325):629-655. doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
103. Al Mamari AMK, Al Jabri Z, Sami H, et al. Evaluation of six commercial and in-house phenotypic tests for detection of AmpC β -lactamases: is routine detection possible? *JAC Antimicrob Resist.* 2023;5(5):dlad101. doi:10.1093/jacamr/dlad101.
104. Larkin H. Increasing antimicrobial resistance poses global threat, WHO says. *JAMA.* 2023;329:200. doi:10.1001/jama.2022.23552.
105. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI supplement M100. 2021. Disponibil la: <https://clsi.org/shop/standards/m100/>
106. Rodríguez-Guerrero E, Callejas-Rodelas JC, Navarro-Marí JM, et al. Systematic review of plasmid AmpC-type resistances in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and preliminary proposal of a simplified screening method for AmpC. *Microorganisms.* 2022;10:611. doi:10.3390/microorganisms10030611.
107. Hattab S, Ma AH, Tariq Z, Vega Prado I, Drobish I, Lee R, Yee R. Rapid phenotypic and genotypic antimicrobial susceptibility testing approaches for use in the clinical laboratory. *Antibiotics.* 2024;13(8):786. doi:10.3390/antibiotics13080786.

108. Muntean MM, Muntean AA, Preda M, et al. Phenotypic and genotypic detection methods for antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens (Review). *Exp Ther Med*. 2022;24(2):508. doi:10.3892/etm.2022.11435.
109. Imkamp F, Kolesnik-Goldmann N, Bodendoerfer E, et al. Detection of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and AmpC in class A and B carbapenemase-producing Enterobacterales. *Microbiol Spectr*. 2022;10:e0213722. doi:10.1128/spectrum.02137-22.
110. World Health Organization. Molecular methods for antimicrobial resistance (AMR) diagnostics to enhance the Global Antimicrobial Resistance Surveillance System. Geneva: WHO; 2019. (WHO/WSI/AMR/2019.1). <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WSI-AMR-2019.1>
111. Matloko K, Fri J, Ateba TP, et al. Evidence of potentially unrelated AmpC β -lactamase producing Enterobacteriaceae from cattle, cattle products and hospital environments commonly harboring the blaACC resistance determinant. *PLoS One*. 2021;16:e0253647. doi:10.1371/journal.pone.0253647.
112. Dobhal S, Sen M, Agarwal J, Das A, et al. Carbapenemase detection methods for carbapenem-resistant Enterobacterales: which to choose? *MGM J Med Sci*. 2023;10(2):218-224. doi:10.4103/mgmj.MGMJ_48_23.
113. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI supplement M100. Wayne (PA); 2022.
114. Baeza LL, Pfennigwerth N, Greissl C, et al. Comparison of five methods for detection of carbapenemases in Enterobacterales with proposal of a new algorithm. *Clin Microbiol Infect*. 2019. doi:10.1016/j.cmi.2019.03.003.
115. Chan WW, Campbell L, Doyle D, Pitout JD. Rapid detection of Enterobacterales that produce carbapenemases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2020.115120.
116. **Anton M**. Genetic bases of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria isolated from invasive infections in the Republic of Moldova. *One Health Risk Manag*. Chişinău; 2024; 5(2):34-41.<https://doi.org/10.38045/ohrm.2024.2.04>.
117. **Anton M**. The perspectives of whole genome sequencing in strengthening outbreak investigations and public health surveillance. *Rom Arch Microbiol Immunol*. 2023;82(1):25-34.
118. Kang W, Sarkar S, Lin ZS, et al. Ultrafast parallelized microfluidic platform for antimicrobial susceptibility testing of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Anal Chem*. 2019;91:6242-6249. doi:10.1021/acs.analchem.9b00939.
119. Benkova M, Soukup O, Marek J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *J Appl Microbiol*. 2020;129:806-822. doi:10.1111/jam.14704.
120. Yang Y, Gupta K, Ekinci KL. All-electrical monitoring of bacterial antibiotic susceptibility in a microfluidic device. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:10639-10644. doi:10.1073/pnas.1922172117.
121. Burduniuc (Popa) O, Lupu M, Bucov V, Tapu L, **Anton (Bivol) M**, Colac S. Secvențierea metagenomică în diagnosticul rezistenței la antimicrobiene. *Akadosmos*. 2024;2(73):84-90. doi:10.52673/18570461.24.2-73.08.
122. Tapu L, Colac S, **Anton (Bivol) M**, Lupu M, Burduniuc (Popa) O, Bucov V. Unele aspecte de utilizare a tehnologiilor metagenomice: diagnosticul infecțiilor și supravegherea rezistenței la antimicrobiene. *Authentication and Conservation of Cultural Heritage. Research and Technique*. 2024;8: 565-569. ISSN 2558-894X.
123. Vasala A, Hytonen VP, Laitinen OH. Modern tools for rapid diagnostics of antimicrobial resistance. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:308. doi:10.3389/fcimb.2020.00308.

124. Jenkins S, Ledebøer NA, Westblade LF, Burnham CA, et al. Evaluation of NG-Test CARBA 5 for rapid phenotypic detection and differentiation of five common carbapenemase families: results of a multicenter clinical evaluation. *J Clin Microbiol.* 2020;58(7):e00344-20. doi:10.1128/JCM.00344-20.
125. Kon H, Abramov S, Frenk S, et al. Multiplex lateral flow immunochromatographic assay is an effective method to detect carbapenemases without risk of OXA-48-like cross reactivity. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20(1):61. doi:10.1186/s12941-021-00469-0. PMID:34481497.
126. European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC study protocol for genomic-based surveillance of carbapenem-resistant and/or colistin-resistant Enterobacteriaceae at the EU level. Version 2.0 Stockholm: ECDC; 2018.
127. Ting S, Liangyi X. Distribution and antimicrobial resistance analysis of gram-negative bacilli isolated from a tertiary hospital in Central China: a 10-year retrospective study from 2012 to 2021. *Front Microbiol.* 2023;14:1297528. doi:10.3389/fmicb.2023.1297528.
128. Lu PL, Liu YC, Toh HS, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40 Suppl:S37–S43. doi:10.1016/S0924-8579(12)70008-0.
129. Wozniak TM, Barnsbee L, Lee XJ, Pacella RE. Antimicrobial resistance & infection control. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;8:26. doi:10.1186/s13756-019-0472-z.
130. Lee YL, Ko WC, Hsueh PR. Geographic patterns of global isolates of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and the activity of ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, and comparators against these isolates: results from the ATLAS program, 2020. *Int J Antimicrob Agents.* 2022;60:106679. doi:10.1016/j.ijantimicag.2022.106679.
131. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenemase-producing bacteria in Europe: interim results from the European Survey on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) project. Stockholm: ECDC; 2013. doi 10.2900/91714.
132. Adwan G, Shtayah A, Adwan K, Al-Sheboul S, Othman S. Prevalence and molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in the West Bank-Palestine for ESBLs, MBLs and integrons. *J Appl Life Sci Int.* 2016;8(2):1–11. DOI:10.9734/JALSI/2016/29259.
133. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens.* 2021;10(3):373. doi:10.3390/pathogens10030373. PMID:33808905.
134. Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Vignon-Whaley JJJ, et al. *Acinetobacter baumannii* resistance: a real challenge for clinicians. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(4):205. doi:10.3390/antibiotics9040205.
135. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net)—Annual Epidemiological Report 2019. Stockholm: ECDC; 2020. DOI 10.2900/10103. Disponibil la: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>
136. Moghnieh RA, Kanafani ZA, Tabaja HZ, et al. Epidemiology of common resistant bacterial pathogens in the countries of the Arab League. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(12):e379–e394. doi:10.1016/S1473-3099(18)30414-6.
137. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(10):1791–1798. doi:10.3201/eid1710.110655. PMID:22000347.
138. Aldrazi FA, Rabaan AA, Alsuliman SA, et al. ESBL expression and antibiotic resistance patterns in a hospital in Saudi Arabia: do healthcare staff have the whole picture? *J Infect Public Health.* 2020;13(5):688–693. doi:10.1016/j.jiph.2019.12.001.

139. International Journal of Scientific and Research Publications. IJSRP. September 2015. Disponibil la: <http://www.ijsrp.org/e-journal.html>
140. Zowawi HM, Balkhy HH, Walsh TR, Paterson DL. β -lactamase production in key gram-negative pathogen isolates from the Arabian Peninsula. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(3):361–380. doi:10.1128/CMR.00096-12.
141. Al-Agamy MHM, Shibl AM, Tawfik AF. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med.* 2009;29(4):253–257. doi:10.4103/0256-4947.55306.
142. Teban-Man A, Szekeres E, Fang P, et al. Municipal wastewaters carry important carbapenemase genes independent of hospital input and can mirror clinical resistance patterns. *Microbiol Spectr.* 2022;10(1):e02711-21. doi:10.1128/spectrum.02711-21.
143. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(9):785–796. doi:10.1016/S1473-3099(13)70190-7.
144. Linkevicius M, Alm E, Roer L, Svartström O, Dada-Olorunwa M, Räisänen K, Reichert F, Möller S, Clarke C, Cormican M, Niedre-Otomere B, Vangravs R, Greičius P, Burduniuc O, **Anton M**, et al. Cross-border spread of a mosaic resistance (OXA-48) and virulence (aerobactin) plasmid in *Klebsiella pneumoniae*: a European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network investigation, Europe, February 2019 to October 2024. *Euro Surveill.* 2025;30(27):2500439. doi:10.2807/1560-7917.ES.2025.30.27.2500439.
145. Urzua-Abad MM, Aquino-Andrade A, Castelan-Vega JA, et al. Detection of carbapenemases in Enterobacterales and other Gram-negative bacilli recovered from hospital and municipal wastewater in Mexico City. *Sci Rep.* 2024;14:26576. doi:10.1038/s41598-024-76824-w.
146. Mairi A, Pantel A, Sotto A, Lavigne JP, Touati A. OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37:587–604. doi:10.1007/s10096-017-3112-7.
147. Yousfi M, Touati A, Muggeo A, Mira B, Asma B, Brasme L, et al. Clonal dissemination of OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolates from companion animals in Algeria. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;12:187–191. doi:10.1016/j.jgar.2017.10.007.
148. Elrahem AA, El-Mashad N, Elshaer M, Ramadan H, Damiani G, Bahgat M, et al. Carbapenem resistance in Gram-negative bacteria: a hospital-based study in Egypt. *Medicina (Kaunas).* 2023;59:285. doi:10.3390/medicina59020285.
149. Awoke T, Teka B, Aseffa A, Sebre S, Seman A, Yeshitela B, et al. Detection of blaKPC and blaNDM carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae* isolates in Addis Ababa, Ethiopia: dominance of blaNDM. *PLoS One.* 2022;17:e0267657. doi:10.1371/journal.pone.0267657.
150. Peirano G, Chen L, Nobrega D, Finn TJ, Kreiswirth BN, DeVinney R, et al. Genomic epidemiology of global carbapenemase-producing *Escherichia coli*, 2015–2017. *Emerg Infect Dis.* 2022;28:924–931. doi:10.3201/eid2805.212535.
151. Garza-Ramos U, Rodríguez-Medina N, Córdova-Fletes C, Rubio-Mendoza D. Whole genome analysis of Gram-negative bacteria using the EPISEQ CS application and other bioinformatic platforms. *J Glob Antimicrob Resist.* 2023;33:61–71. doi:10.1016/j.jgar.2023.02.026.
152. Li C, Chen R, Qiao J, et al. Distribution and molecular characterization of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Henan, China. *Sci Rep.* 2024;14:14418. doi:10.1038/s41598-024-65106-0.
153. Beig M, Badmasti F, Solgi H, Nikbin VS, Sholeh M. Carbapenemase genes distribution in clonal lineages of *Acinetobacter baumannii*: a comprehensive study on plasmids and chromosomes. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1283583. doi:10.3389/fcimb.2023.1283583.

154. Bocanegra-Ibarias P, Garza-González E, Padilla-Orozco M, et al. Successful containment of a hospital outbreak caused by NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 using active surveillance. *PLoS One*. 2019;14:e0209609. doi:10.1371/journal.pone.0209609.
155. Baek EH, Kim SE, Kim S, et al. Successful control of an extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak in a neonatal intensive care unit. *BMC Infect Dis*. 2020;20:166. doi:10.1186/s12879-020-4889-z.
156. Boonstra MB, Spijkerman DCM, Voor In 't Holt AF, et al. An outbreak of ST307 extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a rehabilitation center: an unusual source and route of transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;41:31–36. doi:10.1017/ice.2019.304.
157. Lu B, Lin C, Liu H, et al. Molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates from outpatients in sentinel hospitals, Beijing, China, 2010–2019. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:85. doi:10.3389/fcimb.2020.00085.
158. Haenni M, Saras E, Métayer V, Médaille C, Madec JY. High prevalence of blaCTX-M-1/IncII/ST3 and blaCMY-2/IncII/ST2 plasmids in healthy urban dogs in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:5358–5362. doi:10.1128/AAC.02545-14.
159. Mamani R, Flament-Simon SC, García V, et al. Sequence types, clonotypes, serotypes, and virotypes of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteraemia in a Spanish hospital over a 12-year period (2000–2011). *Front Microbiol*. 2019;10:1530. doi:10.3389/fmicb.2019.01530.
160. Wareth G, Linde J, Hammer P, Splettstoesser WD, Pletz MW, Neubauer H, Sprague LD. Molecular characterization of German *Acinetobacter baumannii* isolates and multilocus sequence typing analysis based on WGS reveals novel STs. *Pathogens*. 2021;10:690. doi:10.3390/pathogens10060690.
161. López-Durán PA, Fonseca-Coronado S, Lozano-Trenado LM, et al. Nosocomial transmission of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in a tertiary level hospital. *PLoS One*. 2020;15:e0231829. doi:10.1371/journal.pone.0231829.
162. Jean SS, Harnod D, Hsueh PR. Global threat of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:823684. doi:10.3389/fcimb.2022.823684.
163. Zhou R, Fang X, Zhang J, et al. Impact of carbapenem resistance on mortality in patients infected with Enterobacteriaceae: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2021;11:e054971. doi:10.1136/bmjopen-2021-054971.
164. Guido M, Zizza A, Sedile R, Nuzzo M, Lupo LI, Grima P. Carbapenem-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients: a five-year surveillance in Italy. *Infect Dis Rep*. 2025;17(4):76. doi:10.3390/idr17040076.
165. World Health Organization. Lack of innovation set to undermine antibiotic performance and health gains. Geneva: WHO; 2022. Disponibil la: <https://www.who.int/news/item/22-06-2022-22-06-2022-lack-of-innovation-set-to-undermine-antibiotic-performance-and-health-gains>

Anexa 1. Structura chimică de bază a preparatelor antimicrobiene [61]

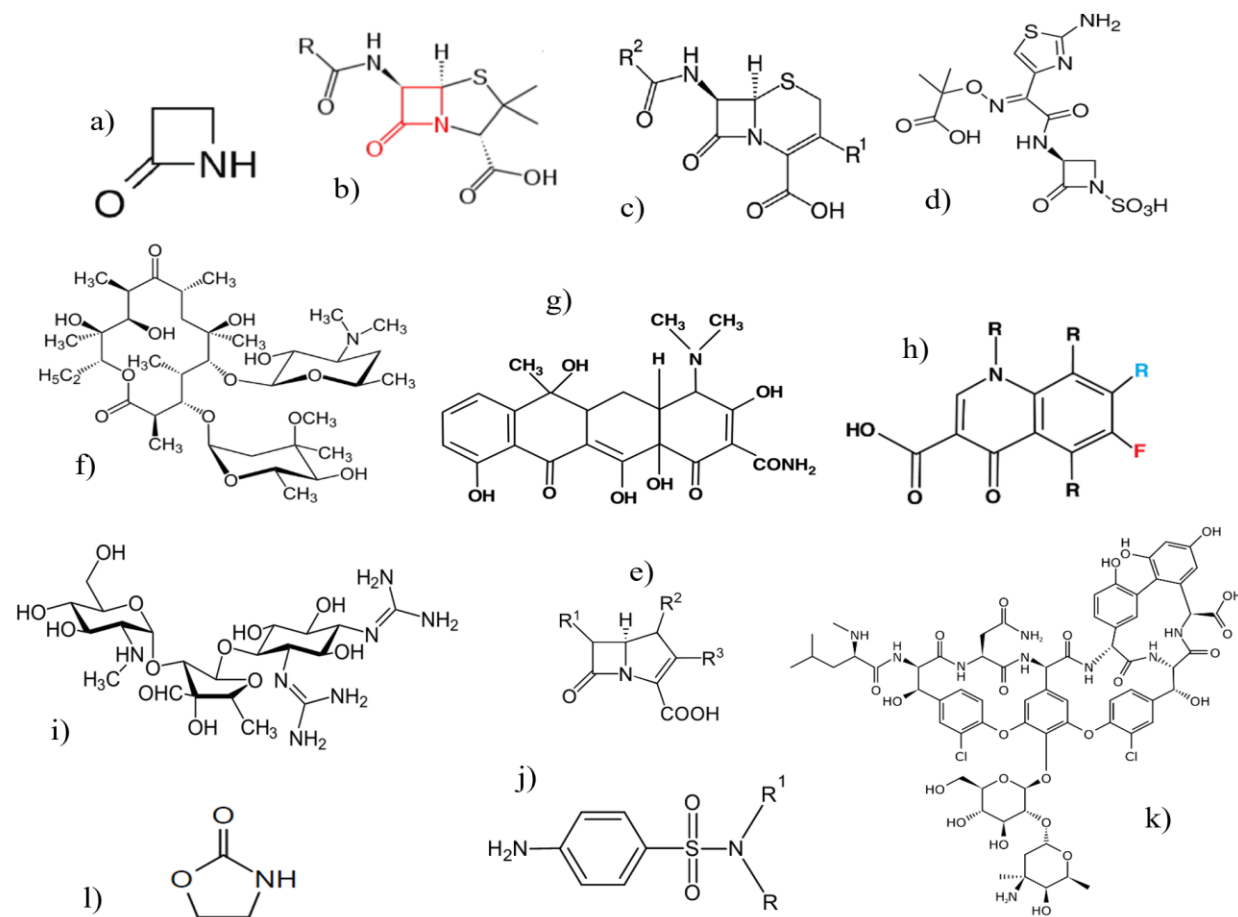


Figura A 1. Structura chimică de bază a preparatelor antimicrobiene din grupul: a) beta-lactaminelor; b) penicinelor; c) cefalosporinelor; d) monobactamelor; e) carbapenemelor; f) macrolidelor; g) tetracinelor; h) chinolonelor; i) aminoglicozidelor; j) sulfonamidelor; k) glicopeptidelor; l) oxazolidinonelor

Tabelul A 1. Avantajele și limitările metodelor avansate de detectare a mecanismelor de rezistență antimicrobiană [82]

Metodă	Principiu	Avantaje	Limitări
PCR / real-time PCR (RT-PCR)	Amplificarea genelor specifice de rezistență (țintit)	Rapid; sensibilitate și specificitate înalte; detectează gene cheie direct din probă	Limitată la gene cunoscute; nu detectează mutații noi; multiplexarea limitată
Secvențiere genomică completă	Analiza întregului genom bacterian	Profil complet al genelor AMR; identifică variante noi; utilă în supravegherea epidemiologică și tipare de transmitere	Cost ridicat; necesită bioinformatică; timp mai lung până la rezultat implică o tehnologie complexă, fiind necesară o pregătire profesională foarte bună pentru a analiza și interpreta rezultatele
Microarrays ADN	Hibridizare ADN-pe-sonde imobilizate	Detectare simultană a multor mutații genice asociate cu rezistența într-un singur test	Rezoluție mai mică decât WGS; detectează doar ce este inclus pe platformă; costuri mari
MALDI-TOF MS	Spectrometrie de masă pe profil proteic ± detectarea activității enzimelor	Identificare rapidă; poate evidenția activitatea unor mecanisme (ex. carbapenemaze)	Acoperire limitată pentru AMR; necesită teste suplimentare dedicate
Teste fenotipice rapide (Carba NP, mCIM/eCIM, teste sinergie)	Detectarea activității enzimelor sau a inhibării specifice	Simple, cost mai redus; relevanță clinică directă (detectează funcția)	Sensibilitate mai scăzută la expresie redusă; nu arată gena exactă
Panouri multiplex sindromice (ex. BioFire, GeneXpert)	Detectarea simultană a agentului patogen + gene AMR selectate	Timp foarte rapid de răspuns; util în terapie empirică timpurie / ATI	Consumabile scumpe; acoperire limitată; utilizare doar la anumite tipuri de probe

Anexa 3. Statistica descriptivă a rezistenței la preparatele antimicrobiene a BGN

Tabelul A3 1. Rezistența la preparatele antimicrobiene testate a tulpinilor de *E. coli* și *K. pneumoniae*, în funcție de anul izolării, secție, gen și biosubstrat

	<i>Escherichia coli</i>								<i>Klebsiella pneumoniae</i>							
	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²	Overall N = 1,306 ¹	95% CI ²
Secția							67	<0.001							85	<0.001
Alte	179 (13.7%)	12%, 16%	89 (11.9%)	9.6%, 14%	90 (16.0%)	13%, 19%			15 (1.0%)	0.52%, 1.6%	13 (1.0%)	0.47%, 1.6%	2 (1.2%)	0.00%, 2.9%		
Boli infecțioase	72 (5.5%)	4.3%, 6.8%	33 (4.4%)	3.0%, 5.9%	39 (7.0%)	4.8%, 9.1%			58 (4.0%)	3.0%, 5.1%	51 (4.0%)	2.9%, 5.1%	7 (4.3%)	1.2%, 7.4%		
Chirurgie	53 (4.1%)	3.0%, 5.1%	38 (5.1%)	3.5%, 6.7%	15 (2.7%)	1.3%, 4.0%			119 (8.3%)	6.9%, 9.7%	110 (8.7%)	7.1%, 10%	9 (5.5%)	2.0%, 9.0%		
Departament urgente	20 (1.5%)	0.87%, 2.2%	9 (1.2%)	0.42%, 2.0%	11 (2.0%)	0.81%, 3.1%			16 (1.1%)	0.57%, 1.7%	16 (1.3%)	0.65%, 1.9%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
Neonatalogi e	3 (0.2%)	0.00%, 0.49%	2 (0.3%)	0.00%, 0.64%	1 (0.2%)	0.00%, 0.53%			8 (0.6%)	0.17%, 0.94%	5 (0.4%)	0.05%, 0.74%	3 (1.8%)	0.00%, 3.9%		

Obstetrică/ Ginecologie	57 (4.4%)	3.3%, 5.5%	20 (2.7%)	1.5%, 3.8%	37 (6.6%)	4.5%, 8.6%			23 (1.6%)	0.95%, , 2.3%	13 (1.0%)	0.47%, 1.6%	10 (6.1%)	2.4%, 9.8%		
Pediatrică	33 (2.5%)	1.7%, 3.4%	21 (2.8%)	1.6%, 4.0%	12 (2.1%)	0.94%, 3.3%			38 (2.6%)	1.8%, 3.5%	22 (1.7%)	1.0%, 2.4%	16 (9.8%)	5.2%, 14%		
Terapie	345 (26.4%))	24%, 29%	173 (23.2%)	20%, 26%	172 (30.7%))	27%, 34%			154 (10.7%)	9.1%, 12%	132 (10.4%)	8.7%, 12%	22 (13.4%))	8.2%, 19%		
Terapie intensivă	370 (28.3%))	26%, 31%	257 (34.5%)	31%, 38%	113 (20.1%))	17%, 23%			762 (53.1%)	51%, 56%	702 (55.2%)	52%, 58%	60 (36.6%))	29%, 44%		
Terapie intensivă pediatrică	23 (1.8%)	1.0%, 2.5%	21 (2.8%)	1.6%, 4.0%	2 (0.4%)	0.00%, 0.85%			26 (1.8%)	1.1%, 2.5%	19 (1.5%)	0.83%, 2.2%	7 (4.3%)	1.2%, 7.4%		
Urologie	151 (11.6%))	9.8%, 13%	82 (11.0%)	8.8%, 13%	69 (12.3%))	9.6%, 15%			216 (15.1%)	13%, 17%	188 (14.8%)	13%, 17%	28 (17.1%))	11%, 23%		
Gen							0.00	>0.9							5.6	0.0 20
F	914 (70.0%))	67%, 72%	521 (69.9%)	67%, 73%	393 (70.1%))	66%, 74%			672 (46.8%)	44%, 49%	581 (45.7%)	43%, 48%	91 (55.5%))	48%, 63%		
M	392 (30.0%))	28%, 33%	224 (30.1%)	27%, 33%	168 (29.9%))	26%, 34%			763 (53.2%)	51%, 56%	690 (54.3%)	52%, 57%	73 (44.5%))	37%, 52%		

Biosubstratul							0.00	>0.9							9.8	0.0 08
LCR	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%			19 (1.3%)	0.73% , 1.9%	17 (1.3%)	0.71%, 2.0%	2 (1.2%)	0.00%, 2.9%		
sânge	88 (6.7%)	5.4%, 8.1%	50 (6.7%)	4.9%, 8.5%	38 (6.8%)	4.7%, 8.9%			411 (28.6%)	26%, 31%	381 (30.0%)	27%, 32%	30 (18.3%)	12%, 24%		
	1,218 (93.3%)	92%, 95%	695 (93.3%)	91%, 95%	523 (93.2%)	91%, 95%			1,005 (70.0%)	68%, 72%	873 (68.7%)	66%, 71%	132 (80.5%)	74%, 87%		

¹n (%); Mean (SD) Median (IQR) Min Max

²CI = Confidence Interval

³Pearson's Chi-squared test with simulated p-value (based on 1e+05 replicates); Wilcoxon rank sum test

Tabelul A3 2. Rezistența la preparatele antimicrobiene testate a tulpinilor de *P. aeruginosa* și *A. baumannii*, în funcție de anul izolării, secție, gen și biosubstrat

<i>P. aeruginosa</i>	Overall N = 81 ¹	95% CI ²	I N = 26 ¹	95% CI ²	R N = 55 ¹	95% CI ²	Statistic Test ³	p-value ³
Anul							9.8	0.019
2020	10 (12.3%)	5.2%, 20%	1 (3.8%)	0.00%, 11%	9 (16.4%)	6.6%, 26%		
2021	22 (27.2%)	17%, 37%	5 (19.2%)	4.1%, 34%	17 (30.9%)	19%, 43%		
2022	14 (17.3%)	9.0%, 26%	9 (34.6%)	16%, 53%	5 (9.1%)	1.5%, 17%		
2023	35 (43.2%)	32%, 54%	11 (42.3%)	23%, 61%	24 (43.6%)	31%, 57%		
Secția							9.5	0.12
Alte	2 (2.5%)	0.00%, 5.8%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	2 (3.6%)	0.00%, 8.6%		
Boli infecțioase	1 (1.2%)	0.00%, 3.6%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	1 (1.8%)	0.00%, 5.3%		
Chirurgie	5 (6.2%)	0.93%, 11%	1 (3.8%)	0.00%, 11%	4 (7.3%)	0.41%, 14%		
Pediatrică	1 (1.2%)	0.00%, 3.6%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	1 (1.8%)	0.00%, 5.3%		
Terapie	2 (2.5%)	0.00%, 5.8%	1 (3.8%)	0.00%, 11%	1 (1.8%)	0.00%, 5.3%		
Terapie intensivă	62 (76.5%)	67%, 86%	18 (69.2%)	51%, 87%	44 (80.0%)	69%, 91%		
Terapie intensivă pediatrică	8 (9.9%)	3.4%, 16%	6 (23.1%)	6.9%, 39%	2 (3.6%)	0.00%, 8.6%		
Gen							1.0	0.3
F	28 (34.6%)	24%, 45%	11 (42.3%)	23%, 61%	17 (30.9%)	19%, 43%		
M	53 (65.4%)	55%, 76%	15 (57.7%)	39%, 77%	38 (69.1%)	57%, 81%		
Biosubstratul							0.36	0.7
LCR	5 (6.2%)	0.93%, 11%	1 (3.8%)	0.00%, 11%	4 (7.3%)	0.41%, 14%		
sânge	76 (93.8%)	89%, 99%	25 (96.2%)	89%, 100%	51 (92.7%)	86%, 100%		
<i>A. baumannii</i>	Overall N = 81 ¹	95% CI ²	I N = 26 ¹	95% CI ²	R N = 55 ¹	95% CI ²	Statistic Test ³	p-value ³
Anul							2.3	0.5

2020	57 (25.3%)	20%, 31%	51 (25.6%)	20%, 32%	6 (23.1%)	6.9%, 39%		
2021	65 (28.9%)	23%, 35%	60 (30.2%)	24%, 37%	5 (19.2%)	4.1%, 34%		
2022	41 (18.2%)	13%, 23%	36 (18.1%)	13%, 23%	5 (19.2%)	4.1%, 34%		
2023	62 (27.6%)	22%, 33%	52 (26.1%)	20%, 32%	10 (38.5%)	20%, 57%		
Secția							3.3	0.8
Alte	7 (3.1%)	0.84%, 5.4%	7 (3.5%)	0.96%, 6.1%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
Chirurgie	19 (8.4%)	4.8%, 12%	16 (8.0%)	4.3%, 12%	3 (11.5%)	0.00%, 24%		
Departament urgențe	8 (3.6%)	1.1%, 6.0%	7 (3.5%)	0.96%, 6.1%	1 (3.8%)	0.00%, 11%		
Pediatrică	3 (1.3%)	0.00%, 2.8%	2 (1.0%)	0.00%, 2.4%	1 (3.8%)	0.00%, 11%		
Terapie	12 (5.3%)	2.4%, 8.3%	11 (5.5%)	2.4%, 8.7%	1 (3.8%)	0.00%, 11%		
Terapie intensivă	172 (76.4%)	71%, 82%	152 (76.4%)	70%, 82%	20 (76.9%)	61%, 93%		
Terapie intensivă pediatrică	3 (1.3%)	0.00%, 2.8%	3 (1.5%)	0.00%, 3.2%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
Gen							0.01	>0.9
F	106 (47.1%)	41%, 54%	94 (47.2%)	40%, 54%	12 (46.2%)	27%, 65%		
M	119 (52.9%)	46%, 59%	105 (52.8%)	46%, 60%	14 (53.8%)	35%, 73%		
Biosubstratul							1.6	0.3
LCR	20 (8.9%)	5.2%, 13%	16 (8.0%)	4.3%, 12%	4 (15.4%)	1.5%, 29%		
sânge	204 (90.7%)	87%, 94%	182 (91.5%)	88%, 95%	22 (84.6%)	71%, 98%		

Tabelul A3 3. Asocierea dintre rezistența la preparatele testate a tulpinilor de *E. coli* și *K. pneumoniae* și mecanismele de rezistență prezente

	Escherichia coli								Klebsiella pneumoniae							
	Overall 1 N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall 1 N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall 1 N = 1,306 ^I	95 % CI ²	Overall N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall N = 1,306 ^I	95% CI ²	Overall all N = 1,306 ^I	95% CI ²
pPeniciline																
Mecanismul suspect							1,274	<0.001							1,358	<0.001
AmpC	147 (11.3%)	9.5%, 13%	147 (19.7%)	17%, 23%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			11 (0.8%)	0.32%, , 1.2%	11 (0.9%)	0.36%, 1.4%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
AmpC, Carba	9 (0.7%)	0.24%, , 1.1%	9 (1.2%)	0.42%, , 2.0%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			4 (0.3%)	0.01%, , 0.55%	4 (0.3%)	0.01%, 0.62%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
AmpC, ESBL	513 (39.3%)	37%, 42%	505 (67.8%)	64%, 71%	8 (1.4%)	0.44%, , 2.4%			206 (14.4%)	13%, 16%	203 (16.0%)	14%, 18%	3 (1.8%)	0.00%, 3.9%		
AmpC, ESBL, Carba	84 (6.4%)	5.1%, 7.8%	84 (11.3%)	9.0%, 14%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			1,050 (73.2%)	71%, 75%	1,049 (82.5%)	80%, 85%	1 (0.6%)	0.00%, 1.8%		
AmpC							1,306	<0.001							1,358	<0.001

neg	725 (55.5%)	53%, 58%	725 (97.3%)	96%, 98%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			1,239 (86.3%)	85%, 88%	1,237 (97.3%)	96%, 98%	2 (1.2%)	0.00%, 2.9%		
poz	20 (1.5%)	0.87%, , 2.2%	20 (2.7%)	1.5%, 3.8%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			28 (2.0%)	1.2%, 2.7%	28 (2.2%)	1.4%, 3.0%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
Cefalosporine																
Mecanismul suspect							403	<0.001							479	<0.001
AmpC, ESBL	513 (39.3%)	37%, 42%	422 (52.3%)	49%, 56%	91 (18.2%)	15%, 22%			206 (14.4%)	13%, 16%	199 (14.8%)	13%, 17%	7 (8.0%)	2.3%, 14%		
AmpC, ESBL, Carba	84 (6.4%)	5.1%, 7.8%	79 (9.8%)	7.7%, 12%	5 (1.0%)	0.13%, , 1.9%			1,050 (73.2%)	71%, 75%	1,035 (76.8%)	75%, 79%	15 (17.2%)	9.3%, 25%		
ESBL	539 (41.3%)	39%, 44%	293 (36.3%)	33%, 40%	246 (49.3%)	45%, 54%			149 (10.4%)	8.8%, 12%	100 (7.4%)	6.0%, 8.8%	49 (56.3%)	46%, 67%		
ESBL, Carba	13 (1.0%)	0.46%, , 1.5%	13 (1.6%)	0.74%, , 2.5%	0 (0.0%)	0.00%, , 0.00%			14 (1.0%)	0.47%, , 1.5%	14 (1.0%)	0.50%, 1.6%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
Cromogen agar, ESBL							292	<0.001							283	<0.001
neg	107 (8.2%)	6.7%, 9.7%	80 (9.9%)	7.9%, 12%	27 (5.4%)	3.4%, 7.4%			804 (56.0%)	53%, 59%	789 (58.5%)	56%, 61%	15 (17.2%)	9.3%, 25%		

poz	1,041 (79.7%)	78%, 82%	727 (90.1%)	88%, 92%	314 (62.9%)	59%, 67%			615 (42.9%)	40%, 45%	559 (41.5%)	39%, 44%	56 (64.4%)	54%, 74%		
Sinergie dublu disc, ESBL							292	<0.0 01							290	<0.0 01
neg	108 (8.3%)	6.8%, 9.8%	81 (10.0%)	8.0%, 12%	27 (5.4%)	3.4%, 7.4%			870 (60.6%)	58%, 63%	854 (63.4%)	61%, 66%	16 (18.4%)	10%, 27%		
poz	1,040 (79.6%)	77%, 82%	726 (90.0%)	88%, 92%	314 (62.9%)	59%, 67%			549 (38.3%)	36%, 41%	494 (36.6%)	34%, 39%	55 (63.2%)	53%, 73%		
Testul discurilor combinat, ESBL							291	<0.0 01							291	<0.0 01
neg	105 (8.0%)	6.6%, 9.5%	78 (9.7%)	7.6%, 12%	27 (5.4%)	3.4%, 7.4%			857 (59.7%)	57%, 62%	842 (62.5%)	60%, 65%	15 (17.2%)	9.3%, 25%		
poz	1,043 (79.9%)	78%, 82%	729 (90.3%)	88%, 92%	314 (62.9%)	59%, 67%			562 (39.2%)	37%, 42%	506 (37.5%)	35%, 40%	56 (64.4%)	54%, 74%		
Carbapenem e																
Mecanismul suspect							370	<0.0 01							543	<0.0 01

AmpC, Carba	9 (0.7%)	0.24%, 1.1%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	9 (0.7%)	0.25%, 1.2%			4 (0.3%)	0.01%, 0.55%	1 (0.1%)	0.00%, 0.40%	3 (0.4%)	0.00%, 0.91%		
AmpC, ESBL, Carba	84 (6.4%)	5.1%, 7.8%	26 (92.9%)	83%, 100%	58 (4.5%)	3.4%, 5.7%			1,050 (73.2%)	71%, 75%	731 (99.7%)	99%, 100%	319 (45.4%)	42%, 49%		
Carba	1 (0.1%)	0.00%, 0.23%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	1 (0.1%)	0.00%, 0.23%			1 (0.1%)	0.00%, 0.21%	1 (0.1%)	0.00%, 0.40%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%		
ESBL, Carba	13 (1.0%)	0.46%, 1.5%	2 (7.1%)	0.00%, 17%	11 (0.9%)	0.35%, 1.4%			14 (1.0%)	0.47%, 1.5%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	14 (2.0%)	0.96%, 3.0%		
Test CarbaNP							896	<0.0 01							1,121	<0.0 01
neg	77 (5.9%)	4.6%, 7.2%	4 (14.3%)	1.3%, 27%	73 (5.7%)	4.4%, 7.0%			341 (23.8%)	22%, 26%	46 (6.3%)	4.5%, 8.0%	295 (42.0%)	38%, 46%		
poz	30 (2.3%)	1.5%, 3.1%	24 (85.7%)	73%, 99%	6 (0.5%)	0.09%, 0.84%			728 (50.7%)	48%, 53%	687 (93.7%)	92%, 95%	41 (5.8%)	4.1%, 7.6%		
MAST Carba PACE							655	<0.0 01							1,028	<0.0 01
neg	63 (4.8%)	3.7%, 6.0%	3 (10.7%)	0.00%, 22%	60 (4.7%)	3.5%, 5.9%			274 (19.1%)	17%, 21%	26 (3.5%)	2.2%, 4.9%	248 (35.3%)	32%, 39%		

poz	44 (3.4%)	2.4%, 4.3%	25 (89.3%)	78%, 100%	19 (1.5%)	0.82%, 2.2%			795 (55.4%)	53%, 58%	707 (96.5%)	95%, 98%	88 (12.5%)	10%, 15%		
ICRTG, OXA-48							467	<0.0 01							800	<0.0 01
neg	74 (5.7%)	4.4%, 6.9%	11 (39.3%)	21%, 57%	63 (4.9%)	3.7%, 6.1%			447 (31.1%)	29%, 34%	170 (23.2%)	20%, 26%	277 (39.5%)	36%, 43%		
poz	33 (2.5%)	1.7%, 3.4%	17 (60.7%)	43%, 79%	16 (1.3%)	0.64%, 1.9%			622 (43.3%)	41%, 46%	563 (76.8%)	74%, 80%	59 (8.4%)	6.4%, 10%		
ICRTG, KPC							393	<0.0 01							535	<0.0 01
neg	102 (7.8%)	6.4%, 9.3%	24 (85.7%)	73%, 99%	78 (6.1%)	4.8%, 7.4%			999 (69.6%)	67%, 72%	666 (90.9%)	89%, 93%	333 (47.4%)	44%, 51%		
poz	5 (0.4%)	0.05%, , 0.72%	4 (14.3%)	1.3%, 27%	1 (0.1%)	0.00%, , 0.23%			70 (4.9%)	3.8%, 6.0%	67 (9.1%)	7.1%, 11%	3 (0.4%)	0.00%, 0.91%		
ICRTG, NDM							474	<0.0 01							612	<0.0 01
neg	95 (7.3%)	5.9%, 8.7%	19 (67.9%)	51%, 85%	76 (5.9%)	4.7%, 7.2%			796 (55.5%)	53%, 58%	475 (64.8%)	61%, 68%	321 (45.7%)	42%, 49%		
poz	12 (0.9%)	0.40%, , 1.4%	9 (32.1%)	15%, 49%	3 (0.2%)	0.00%, , 0.50%			273 (19.0%)	17%, 21%	258 (35.2%)	32%, 39%	15 (2.1%)	1.1%, 3.2%		
ICRTG, VIM							321	<0.0 01							518	<0.0 01

neg	107 (8.2%)	6.7%, 9.7%	28 (100.0%)	100%, 100%	79 (6.2%)	4.9%, 7.5%			1,052 (73.3%)	71%, 76%	717 (97.8%)	97%, 99%	335 (47.7%)	44%, 51%		
poz	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%			17 (1.2%)	0.62% , 1.7%	16 (2.2%)	1.1%, 3.2%	1 (0.1%)	0.00%, 0.42%		
ICRTG, IMP							321	<0.0 01							514	<0.0 01
neg	107 (8.2%)	6.7%, 9.7%	28 (100.0%)	100%, 100%	79 (6.2%)	4.9%, 7.5%			1,041 (72.5%)	70%, 75%	711 (97.0%)	96%, 98%	330 (47.0%)	43%, 51%		
poz	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%			28 (2.0%)	1.2%, 2.7%	22 (3.0%)	1.8%, 4.2%	6 (0.9%)	0.17%, 1.5%		
PCR, OXA- 48							379	<0.0 01							783	<0.0 01
neg	77 (5.9%)	4.6%, 7.2%	15 (53.6%)	35%, 72%	62 (4.9%)	3.7%, 6.0%			414 (28.9%)	27%, 31%	153 (20.9%)	18%, 24%	261 (37.2%)	34%, 41%		
poz	30 (2.3%)	1.5%, 3.1%	13 (46.4%)	28%, 65%	17 (1.3%)	0.70% , 2.0%			655 (45.6%)	43%, 48%	580 (79.1%)	76%, 82%	75 (10.7%)	8.4%, 13%		
PCR, KPC							387	<0.0 01							559	<0.0 01
neg	95 (7.3%)	5.9%, 8.7%	21 (75.0%)	59%, 91%	74 (5.8%)	4.5%, 7.1%			913 (63.6%)	61%, 66%	587 (80.1%)	77%, 83%	326 (46.4%)	43%, 50%		

poz	12 (0.9%)	0.40% , 1.4%	7 (25.0%)	9.0%, 41%	5 (0.4%)	0.05% , 0.73%			156 (10.9%)	9.3%, 12%	146 (19.9%)	17%, 23%	10 (1.4%)	0.55%, 2.3%		
PCR, NDM							455	<0.0 01							652	<0.0 01
neg	87 (6.7%)	5.3%, 8.0%	16 (57.1%)	39%, 75%	71 (5.6%)	4.3%, 6.8%			624 (43.5%)	41%, 46%	333 (45.4%)	42%, 49%	291 (41.5%)	38%, 45%		
poz	20 (1.5%)	0.87% , 2.2%	12 (42.9%)	25%, 61%	8 (0.6%)	0.19% , 1.1%			445 (31.0%)	29%, 33%	400 (54.6%)	51%, 58%	45 (6.4%)	4.6%, 8.2%		
PCR, VIM							324	<0.0 01							515	<0.0 01
neg	96 (7.4%)	5.9%, 8.8%	26 (92.9%)	83%, 100%	70 (5.5%)	4.2%, 6.7%			1,044 (72.8%)	70%, 75%	712 (97.1%)	96%, 98%	332 (47.3%)	44%, 51%		
poz	11 (0.8%)	0.35% , 1.3%	2 (7.1%)	0.00% , 17%	9 (0.7%)	0.25% , 1.2%			25 (1.7%)	1.1%, 2.4%	21 (2.9%)	1.7%, 4.1%	4 (0.6%)	0.01%, 1.1%		
PCR, IMP							321	<0.0 01							513	<0.0 01
neg	98 (7.5%)	6.1%, 8.9%	26 (92.9%)	83%, 100%	72 (5.6%)	4.4%, 6.9%			1,043 (72.7%)	70%, 75%	714 (97.4%)	96%, 99%	329 (46.9%)	43%, 51%		
poz	9 (0.7%)	0.24% , 1.1%	2 (7.1%)	0.00% , 17%	7 (0.5%)	0.14% , 0.95%			26 (1.8%)	1.1%, 2.5%	19 (2.6%)	1.4%, 3.7%	7 (1.0%)	0.26%, 1.7%		
Final Carba							476	<0.0 01							932	<0.0 01

neg	21 (1.6%)	0.93% , 2.3%	2 (7.1%)	0.00% , 17%	19 (1.5%)	0.82% , 2.2%			184 (12.8%)	11%, 15%	18 (2.5%)	1.3%, 3.6%	166 (23.6%)	21%, 27%		
netestat	1,220 (93.4%)	92%, 95%	0 (0.0%)	0.00% , 0.00%	1,220 (95.5%)	94%, 97%			423 (29.5%)	27%, 32%	7 (1.0%)	0.25 %, 1.7%	416 (59.3%)	56%, 63%		
pos	65 (5.0%)	3.8%, 6.2%	26 (92.9%)	83%, 100%	39 (3.1%)	2.1%, 4.0%			828 (57.7%)	55%, 60%	708 (96.6%)	95%, 98%	120 (17.1%)	14%, 20%		

¹n (%)

²CI = Confidence Interval

³Pearson's Chi-squared test with simulated p-value (based on 1e+05 replicates)

Tabelul A3 4. Asocierea dintre tulpinile de *P. aeruginosa* și *A. baumannii* rezistente la carbapeneme și mecanismele de rezistență prezente

<i>P. aeruginosa</i>	Overall N = 81 ¹	95% CI ²	R N = 57 ¹	95% CI ²	S N = 24 ¹	95% CI ²
Test CarbaNP						
neg	65 (80.2%)	72%, 89%	41 (71.9%)	60%, 84%	24 (100.0%)	100%, 100%
poz	16 (19.8%)	11%, 28%	16 (28.1%)	16%, 40%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%
ICRTG, OXA-48						
neg	58 (71.6%)	62%, 81%	44 (77.2%)	66%, 88%	14 (58.3%)	39%, 78%
poz	23 (28.4%)	19%, 38%	13 (22.8%)	12%, 34%	10 (41.7%)	22%, 61%
ICRTG, KPC						
neg	70 (86.4%)	79%, 94%	55 (96.5%)	92%, 100%	15 (62.5%)	43%, 82%
poz	11 (13.6%)	6.1%, 21%	2 (3.5%)	0.00%, 8.3%	9 (37.5%)	18%, 57%
ICRTG, NDM						
neg	58 (71.6%)	62%, 81%	45 (78.9%)	68%, 90%	13 (54.2%)	34%, 74%
poz	23 (28.4%)	19%, 38%	12 (21.1%)	10%, 32%	11 (45.8%)	26%, 66%
ICRTG, VIM						
neg	70 (86.4%)	79%, 94%	46 (80.7%)	70%, 91%	24 (100.0%)	100%, 100%
poz	11 (13.6%)	6.1%, 21%	11 (19.3%)	9.1%, 30%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%
ICRTG, IMP						
neg	80 (98.8%)	96%, 100%	56 (98.2%)	95%, 100%	24 (100.0%)	100%, 100%
poz	1 (1.2%)	0.00%, 3.6%	1 (1.8%)	0.00%, 5.2%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%
PCR, OXA-48						
neg	51 (63.0%)	52%, 73%	39 (68.4%)	56%, 80%	12 (50.0%)	30%, 70%
poz	30 (37.0%)	27%, 48%	18 (31.6%)	20%, 44%	12 (50.0%)	30%, 70%
PCR, KPC						
neg	62 (76.5%)	67%, 86%	50 (87.7%)	79%, 96%	12 (50.0%)	30%, 70%

poz	19 (23.5%)	14%, 33%	7 (12.3%)	3.8%, 21%	12 (50.0%)	30%, 70%
PCR, NDM						
neg	47 (58.0%)	47%, 69%	37 (64.9%)	53%, 77%	10 (41.7%)	22%, 61%
poz	34 (42.0%)	31%, 53%	20 (35.1%)	23%, 47%	14 (58.3%)	39%, 78%
PCR, VIM						
neg	68 (84.0%)	76%, 92%	44 (77.2%)	66%, 88%	24 (100.0%)	100%, 100%
poz	13 (16.0%)	8.1%, 24%	13 (22.8%)	12%, 34%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%
PCR, IMP						
neg	81 (100.0%)	100%, 100%	57 (100.0%)	100%, 100%	24 (100.0%)	100%, 100%
Final Carba						
neg	30 (37.0%)	27%, 48%	20 (35.1%)	23%, 47%	10 (41.7%)	22%, 61%
pos	51 (63.0%)	52%, 73%	37 (64.9%)	53%, 77%	14 (58.3%)	39%, 78%
<i>A. baumannii</i>	Overall N = 225^l	95% CI²	R N = 199^l	95% CI²	S N = 26^l	95% CI²
Test Carba NP						
neg	30 (13.3%)	8.9%, 18%	24 (12.1%)	7.5%, 17%	6 (23.1%)	6.9%, 39%
netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
poz	184 (81.8%)	77%, 87%	175 (87.9%)	83%, 92%	9 (34.6%)	16%, 53%
ICRTG, OXA-23						
neg	118 (52.4%)	46%, 59%	104 (52.3%)	45%, 59%	14 (53.8%)	35%, 73%
netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
poz	96 (42.7%)	36%, 49%	95 (47.7%)	41%, 55%	1 (3.8%)	0.00%, 11%
PCR, OXA-23						
neg	121 (53.8%)	47%, 60%	107 (53.8%)	47%, 61%	14 (53.8%)	35%, 73%
netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
poz	93 (41.3%)	35%, 48%	92 (46.2%)	39%, 53%	1 (3.8%)	0.00%, 11%
PCR, OXA-58						
neg	198 (88.0%)	84%, 92%	184 (92.5%)	89%, 96%	14 (53.8%)	35%, 73%
netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
poz	16 (7.1%)	3.8%, 10%	15 (7.5%)	3.9%, 11%	1 (3.8%)	0.00%, 11%
PCR, OXA-40						
neg	126 (56.0%)	50%, 62%	122 (61.3%)	55%, 68%	4 (15.4%)	1.5%, 29%

netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
poz	88 (39.1%)	33%, 45%	77 (38.7%)	32%, 45%	11 (42.3%)	23%, 61%
Final Carba						
neg	33 (14.7%)	10%, 19%	31 (15.6%)	11%, 21%	2 (7.7%)	0.00%, 18%
netestat	11 (4.9%)	2.1%, 7.7%	0 (0.0%)	0.00%, 0.00%	11 (42.3%)	23%, 61%
pos	181 (80.4%)	75%, 86%	168 (84.4%)	79%, 89%	13 (50.0%)	31%, 69%

¹n (%);

²CI = Confidence Interval

³Pearson's Chi-squared test with simulated p-value (based on 1e+05 replicatest

Anexa 4. Ghid Principii și procedure în testarea microbiologică a hemoculturilor



Aprobat la ședința Consiliului de Experți al Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale, Proces-verbal nr.2 din 03.07.2020

Aprobat și implementat prin ordinul Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale nr.696 din 29.07.2020 Cu privire la aprobarea Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”

Colectivul de autori:

Burduniuc Olga,	doctor în științe medicale, conferențiar cercetător
Bălan Greta,	doctor în științe medicale, conferențiar universitar
Sofronie Olga,	cercetător științific, master în sănătate publică
Bucov Victoria,	doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător
Holban Tiberiu,	doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Maria Bivol,	cercetător științific stagiar

Recenzenți:

Rudic Valeriu,	doctor în științe biologice, doctor habilitat, profesor universitar, academician, Om emerit
Spînu Constantin,	doctor în științe medicale, doctor habilitat, profesor universitar, academician, Om emerit

Acest ghid reprezintă pasul prin care evidențele științifice sunt transferate în domeniul practicii medicale, prin care se asigură, unui pacient individual, asistența medicală corespunzătoare, prin prisma informațiilor existente la momentul respectiv.

Ghidul este destinat specialiștilor din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică, instituțiilor medico-sanitare care oferă servicii de laborator (medici microbiologi, felceri laboranți) și asistență medicală (medici clinicieni, asistenți medicali).

Informația prezentată în ghid este relevantă și pentru procesul didactic, în formarea și educarea continuă a medicilor și a personalului medical cu studii medii.

Ghidul stabilește principii și proceduri în testarea hemoculturilor și oferă recomandări specifice pentru colectarea, transportarea și investigarea microbiologică a sângelui.

În ghid nu vor fi abordate proceduri de identificare a agenților patogeni. Testarea sensibilității la antimicrobiene a microorganismelor este abordată în standardul EUCAST (Rapid AST in blood cultures, AST of bacteria, AST of fungi).

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor: Ghid / Burduniuc Olga, Bălan Greta, Sofronie Olga [et al.]; Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale al Republicii Moldova, Agenția Națională pentru Sănătatea Publică. – Chișinău: S. n., 2020 (Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”). – 56 p.: fig., tab.

Referințe bibliogr.: p. 52-56 (74 tit.). – 450 ex.

ISBN 978-9975-151-43-6.

Acest ghid a fost tipărit cu suportul financiar al Uniunii Europene în cadrul eforturilor de răspuns la pandemia COVID-19 ale Uniunii Europene și Organizației Mondiale a Sănătății în cadrul Parteneriatului Estic și a Programului „Solidari pentru Sănătate”. Conținutul și opiniile exprimate în text aparțin autorilor și nu reflectă în mod necesar viziunea și politicile UE și OMS.



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA

ORDIN
mun. Chișinău

„19” iulie 2020

nr. 696

Cu privire la aprobarea Ghidului

„Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”

În vederea standardizării și asigurării calității serviciilor medicale de laborator, precum și implementarea reglementărilor internaționale în interesul sănătății publice globale, în temeiul prevederilor Hotărârii Guvernului nr.694/2017 Cu privire la organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale,

ORDON:

1. Se aprobă Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”, conform anexei.

2. Conducătorii prestatorilor de servicii medicale de laborator vor organiza implementarea și monitorizarea eficienței aplicării în activitatea practică a prevederilor Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”.

3. Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale va întreprinde măsurile necesare în vederea asigurării pieței farmaceutice din Republica Moldova cu medicamentele și dispozitivele medicale incluse în Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”.

4. Compania Națională de Asigurări în Medicină:

1) va asigura finanțarea serviciilor incluse în Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”;

2) va organiza ghidarea de către angajații din subordine de prevederile Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” în procesul de executare a atribuțiilor funcționale, inclusiv în validarea volumului și calității serviciilor acordate de către prestatorii contractați în sistemul asigurării obligatorii de asistență medicală.

5. Agenția Națională pentru Sănătate Publică va organiza:

1) evaluarea instituționalizării Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” în cadrul evaluării și acreditării prestatorilor de servicii medicale de laborator;

2) evaluarea respectării prevederilor Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” în cadrul controalelor efectuate în instituțiile medico-sanitare;

3) asigurarea accesibilității Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” pe pagina web a ANSP și acordarea suportului consultativ-metodic în implementarea acestuia în activitatea prestatorilor de servicii medicale de laborator.

6. Instituțiile de învățământ medical vor organiza implementarea Ghidului „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” în activitatea didactică a catedrelor respective.

7. Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor” se plasează pe pagina WEB a Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale.

8. Controlul executării prezentului ordin se atribuie dlui Constantin Rîmîș și dlui Alexandru Holostenco, secretari de stat.

Ministru

Viorica DUMBRĂVEANU

Anexa 5. Ghid Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,
MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA



AGENȚIA NAȚIONALĂ
PENTRU SĂNĂTATE
PUBLICĂ



UNIVERSITATEA DE STAT
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”

GHID

Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar



Chișinău, 2021

Aprobat la ședința Consiliului de Experți al Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale,
Proces-verbal nr. 2 din 30.06.2021

Aprobat prin ordinul Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale, nr. 651 din 09.07.2021
cu privire la aprobarea Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor
tractului urinar”.

Autori:

Olga Burduniuc,	dr. șt. med., conferențiar universitar, ANSP
Emil Ceban,	dr. hab. șt. med., profesor universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”
Greta Bălan,	dr. șt. med., conferențiar universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”
Gheorghe Plăcintă,	dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”
Anatolie Vișnevschi,	dr. hab. șt. med., profesor universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”
Olga Sofronie,	cercetător științific, master în sănătate publică, ANSP
Maria Bivol,	cercetător științific stagiar, ANSP

Ghidul este destinat specialiștilor de laborator, medicilor clinicieni din asistența medicală primară, specializată și de staționar.

Informația prezentată în ghid este relevantă și pentru procesul didactic în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor și personalului medical cu studii medii.

Ghidul stabilește principii, proceduri în testarea probelor de urină pentru diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar și oferă recomandări specifice privind recoltarea, transportarea, examinarea, criteriile de interpretare, eliberare a rezultatelor.

În ghid nu este abordată metodologia de testare a sensibilității la antimicrobiene, aceasta fiind redată în standardul EUCAST (AST of bacteria).

Recenzenți:

Constantin Spînu,	doctor habilitat, profesor universitar, Om emerit, Agenția Națională pentru Sănătate Publică
Valeriu Rudic,	doctor habilitat, profesor universitar, academician USMF „Nicolae Testemițanu”
Adrian Tănase,	doctor habilitat, profesor universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar: Ghid / Olga Burduniuc, Emil Ceban, Greta Bălan [et al.]; Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale, Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. – Chișinău: S. n., 2021 (ÎS Firma Editorială Poligrafică „Tipografia Centrală”). – 64 p.: fig., tab.

Referințe bibliogr.: p. 60-62 (41 tit.). – 300 ex.

Acest ghid a fost elaborat în cadrul proiectului de cercetare 20.80009.8007.09 „Studierea rezistenței bacililor gramnegativi la antimicrobiene în vederea fortificării sistemului național de supraveghere și control al bolilor transmisibile” și tipărit cu sprijinul financiar al Organizației Mondiale a Sănătății.

ÎS Firma Editorială Poligrafică „Tipografia Centrală”,
MD-2068, Chișinău, str. Florilor, 1, Tel. 022-49-31-46

ISBN 978-9975-3415-9-2



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA

ORDIN
mun. Chișinău

„09 „iulie” 2021

nr. 651

Cu privire la aprobarea Ghidului

„Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”

În vederea standardizării și asigurării calității serviciilor medicale de laborator, în temeiul prevederilor Hotărârii Guvernului nr.694/2017 Cu privire la organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale,

ORDON:

1. Se aprobă Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, conform anexei.

2. Conducătorii prestatorilor de servicii medicale de laborator vor organiza implementarea și monitorizarea eficienței aplicării în activitatea practică a prevederilor Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”.

3. Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale va întreprinde măsurile necesare în vederea asigurării pieței farmaceutice din Republica Moldova cu medicamentele și dispozitivele medicale incluse în Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”.

4. Compania Națională de Asigurări în Medicină:

1) va asigura finanțarea serviciilor incluse în Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”;

2) va organiza ghidarea de către angajații din subordine de prevederile Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” în procesul de executare a atribuțiilor funcționale, inclusiv în validarea volumului și calității serviciilor acordate de către prestatorii contractați în sistemul asigurării obligatorii de asistență medicală.

5. Agenția Națională pentru Sănătate Publică va organiza:

1) evaluarea instituționalizării Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” în cadrul evaluării și acreditării prestatorilor de servicii medicale de laborator;

2) evaluarea respectării prevederilor Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” în cadrul controalelor efectuate în instituțiile medico-sanitare;

3) asigurarea accesibilității Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” pe pagina web a ANSP și acordarea suportului consultativ-metodic în implementarea acestuia în activitatea prestatorilor de servicii medicale de laborator.

6. Instituțiile de învățământ medical vor organiza implementarea Ghidului „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” în activitatea didactică a catedrelor respective.

7. Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar” se plasează pe pagina WEB a Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale.

8. Controlul executării prezentului ordin mi-l asum.

Secretar de Stat

T. Zatic

Tatiana ZATÎC

Anexa 6. Ghid Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL REPUBLICII MOLDOVA



ANSP
AGENCIA NAȚIONALĂ
PENTRU SĂNĂȚATE PUBLICĂ



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

GHID

DETECTAREA MECANISMELOR DE REZISTENȚĂ LA ANTIMICROBIENE, INTERPRETAREA ȘI APLICAREA CLINICĂ A REZULTATELOR



Aprobat la ședința Consiliului de Experți al Ministerului Sănătății al Republicii Moldova din 19.12.2023, proces verbal nr. 3.

Aprobat prin Ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr. 1239 din 29.12.2023, cu privire la aprobarea Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”.

Colectivul de autori:

<i>Olga Burduniuc,</i>	dr. hab. șt. med., conf. cercet., Agenția Națională pentru Sănătate Publică
<i>Greta Bălan,</i>	dr. hab. șt. med., conf. univ., USMF „Nicolae Testemițanu”
<i>Tiberiu Holban,</i>	dr. hab. șt. med., prof. univ., USMF „Nicolae Testemițanu”
<i>Gheorghe Plăcintă,</i>	dr. hab. șt. med., conf. univ., USMF „Nicolae Testemițanu”
<i>Olga Sofronie,</i>	asistent universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”
<i>Livia Țapu,</i>	cercetător științific stagiar, Agenția Națională pentru Sănătate Publică
<i>Maria Anton,</i>	cercetător științific stagiar, Agenția Națională pentru Sănătate Publică

Recenzenți:

<i>Valeriu Rudic,</i>	dr. hab. șt. biol., prof. univ., academician, USMF „Nicolae Testemițanu”
<i>Lilia Cojuhari,</i>	dr. șt. med., conf. univ., USMF „Nicolae Testemițanu”

Ghidul a fost examinat, avizat și aprobat de:

Structura/instituția	Prenume, nume, funcția
Consiliul științific al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică	<i>Nicolae Jelamschi</i> , dr. șt. med., master în sănătate publică, președinte
Comisia științifico-metodică de profil „Medicină comunitară” a USMF „Nicolae Testemițanu”	<i>Gheorghe Plăcintă</i> , dr. hab. șt. med., conf. univ., președinte
Catedra de medicină de laborator, USMF „Nicolae Testemițanu”	<i>Anatolie Vișnevschi</i> , dr. hab. șt. med., prof. univ., șef catedră
Catedra de medicină de familie, USMF „Nicolae Testemițanu”	<i>Ghenadie Curocichin</i> , dr. hab. șt. med., prof. univ., șef catedră
Catedra de farmacologie și farmacologie clinică, USMF „Nicolae Testemițanu”	<i>Nicolae Bacinschi</i> , dr. hab. șt. med., prof. univ., șef catedră
Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale	<i>Dragoș Guțu</i> , director general
Compania Națională de Asigurări în Medicină	<i>Ion Dodon</i> , director general
Consiliul de Experți al Ministerului Sănătății	<i>Aurel Grosu</i> , dr. hab. șt. med., prof. univ., președinte

Acest ghid a fost elaborat în cadrul proiectului de cercetare 20.80009.8007.09 „Studierea rezistenței bacililor gramnegativi la antimicrobiene în vederea fortificării sistemului național de supraveghere și control al bolilor transmisibile”.

Tipar:

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA

Tiraj – ex.

ISBN



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA

ORDIN
mun. Chișinău

29.12.2023

Nr. 1239

**Cu privire la aprobarea Ghidului
„Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene,
interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”**

În vederea standardizării și asigurării calității serviciilor medicale de laborator acordate populației, în temeiul Hotărârii Guvernului nr.148/2021 Cu privire la organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății,

ORDON:

1. Se aprobă Ghidul „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”, conform anexei.
2. Conducătorii prestatorilor de servicii medicale vor organiza implementarea și monitorizarea aplicării în practică a Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”.
3. Conducătorul Agenției Medicamentului și Dispozitivelor Medicale va întreprinde măsurile necesare în vederea autorizării și înregistrării dispozitivelor medicale, consumabilelor, reagenților și echipamentelor incluse în Ghidul „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”.
4. Conducătorul Companiei Naționale de Asigurări în Medicină va organiza ghidarea angajaților din subordine de Ghidul „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor” în procesul de executare a atribuțiilor funcționale, inclusiv în validarea volumului și calității serviciilor acordate de către prestatorii încadrați în sistemul asigurării obligatorii de asistență medicală.
5. Conducătorul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică va organiza evaluarea:
 - 1) aplicării Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”, în cadrul evaluării și acreditării prestatorilor de servicii medicale;
 - 2) respectării cerințelor Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor”, în contextul controlului activității instituțiilor prestatoare de servicii medicale.
6. Direcția managementul calității serviciilor de sănătate, de comun cu Agenția Națională pentru Sănătate Publică, vor asigura suportul consultativ-metodic în implementarea Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor” în activitatea prestatorilor de servicii medicale.
7. Rectorul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și conducătorii colegiilor de medicină vor organiza implementarea Ghidului „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor” în activitatea didactică a catedrelor respective.
8. Ghidul „Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor” va fi plasat pe pagina oficială a Ministerului Sănătății, la rubrica Legislație/Ghiduri, protocoale, standarde.
9. Controlul executării prezentului ordin se atribuie secretarilor de stat.

Ministru

Ala NEMERENCO

**Anexa 7. Adeverințe privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor
conexe**


REPUBLICA MOLDOVA
**Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuala**

ADEVERINȚĂ
privind înscrierea obiectelor
dreptului de autor și ale drepturilor conexe

SERIA OȘ Nr. 7823
DIN 18.03.2024

eliberată în temeiul Legii nr. 230/2022 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, prin care se confirmă înscrierea obiectului de pe verso
în Registrul de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe


Director general

CHIȘINĂU

Seria: OȘ (operă științifică)

Numărul de înscriere: 7823

Data înscrierii: 20.02.2024

Numărul cererii: 2621

Denumirea obiectului: „GHID

Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic
al infecțiilor tractului urinar”

Autori:

Burduniuc Olga **IDNP:** 0970811427009

Ceban Emil **IDNP:** 0972703038755

Bălan Greta **IDNP:** 0982305165638

Plăcintă Gheorghe **IDNP:** 0971604549788

Vișnevschi Anatolie **IDNP:** 0981908018758

Sofronie Olga **IDNP:** 0982407386560

Anton Maria **IDNP:** 2008049002849

Titularii drepturilor patrimoniale:

AGENȚIA NAȚIONALĂ PENTRU SĂNĂTATE PUBLICĂ

IDNO: 1018601000021

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae

Testemițanu" din Republica Moldova **IDNO:** 1007600000794

L.S.

Sefă Directie Drept de Autor





REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

ADEVERINȚĂ

privind înscrierea obiectelor
dreptului de autor și ale drepturilor conexe

SERIA OȘ Nr. 7824

DIN 18.03.2024

eliberată în temeiul Legii nr. 230/2022 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, prin care se confirmă înscrierea obiectului de pe verso
în Registrul de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe



Director general

CHIȘINĂU

Seria: OȘ (operă științifică)

Numărul de înscriere: 7824

Data înscrierii: 20.02.2024

Numărul cererii: 2622

Denumirea obiectului: „GHID

Principii și proceduri în testarea microbiologică
a hemoculturilor”

Autori:

Burduniuc Olga **IDNP:** 0970811427009

Bălan Greta **IDNP:** 0982305165638

Sofronie Olga **IDNP:** 0982407386560

Bucova Victoria **IDNP:** 2001001559931

Holban Tiberiu **IDNP:** 0981305014463

Anton Maria **IDNP:** 2008049002849

Titularii drepturilor patrimoniale:

AGENȚIA NAȚIONALĂ PENTRU SĂNĂTATE PUBLICĂ

IDNO: 1018601000021

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae
Testemițanu" din Republica Moldova **IDNO:** 1007600000794

L.S.



Sefă Direcție Drept de Autor





REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

ADEVERINȚĂ

privind înscrierea obiectelor
dreptului de autor și ale drepturilor conexe

SERIA OȘ Nr. 7825

DIN 18.03.2024

eliberată în temeiul Legii nr. 230/2022 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, prin care se confirmă înscrierea obiectului de pe verso
în Registrul de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe



Director general

CHIȘINĂU

Seria: OȘ (operă științifică)

Numărul de înscriere: 7825

Data înscrierii: 20.02.2024

Numărul cererii: 2623

Denumirea obiectului: „GHID

DETECTAREA MECANISMELOR DE REZISTENȚĂ
LA ANTIMICROBIENE, INTERPRETAREA ȘI
APLICAREA CLINICĂ A REZULTATELOR”

Autori:

Burduniuc Olga **IDNP:** 0970811427009

Bălan Greta **IDNP:** 0982305165638

Holban Tiberiu **IDNP:** 0981305014463

Plăcintă Gheorghe **IDNP:** 0971604549788

Sofronie Olga **IDNP:** 0982407386560

Țapu Livia **IDNP:** 2005048064715

Anton Maria **IDNP:** 2008049002849

Titularii drepturilor patrimoniale:

AGENȚIA NAȚIONALĂ PENTRU SĂNĂTATE PUBLICĂ

IDNO: 1018601000021

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae
Testemițanu" din Republica Moldova **IDNO:** 1007600000794

L.Ș.

Șefă Direcție Drept de Autor



Anexa 8. Acte de implementare

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	Pag. 2 / 2						
APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF "Nicolae Testemițanu" din RM academician al ASM, prof. univ. dr. hab. st. med. Stanislav GROPPA 2022 ACTUL nr. 89 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic) 1. Denumirea ofertei pentru implementare: <i>Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene.</i> 2. Autorii: ANTON Maria, cercet. șt., stagiar. PERJERU Maria, cercet. șt., stagiar. LOZNEANU Irina, cercet. șt., stagiar. ȚAPU Livia, cercet. șt., stagiar. CROITORU Cătălina, dr. șt. med., conf. univ. BALAN Greta, dr. șt. med., conf. univ., BURDUNIUC Olga, dr. șt. med., conf. cercet. 3. Numărul inovației Nr. 5966 din 12 decembrie 2022 4. Unde și când a fost implementată: Broșura a fost explicată, discutată și repartizată copiilor din 2 grădinițe din mun. Chișinău (grupa pregătitoare) în cadrul evenimentelor de creștere a conștientizării procesului de utilizare a preparatelor antimicrobiene cu suportul și ghidarea membrilor echipei proiectului Programului de Stat 20.80009.8007.09 „Studierea rezistenței bacililor gramnegativi la antimicrobiene în vederea fortificării sistemului național de supraveghere și control al bolilor transmisibile”. 5. Rezultatul implementării: Au fost dezvoltate abilități de comunicare coerente cu expunere logică la studenții Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo” privind bunele practici ce țin de măsurile de prevenirea infecțiilor copiilor grupe pregătitoare de la grădinițe. Broșura a trezit curiozitatea copiilor, care s-au arătat interesați și au pus întrebări suplimentare. 6. Eficacitatea implementării: Broșura poate fi considerată un instrument util în activități distractiv-didactice cu copiii de 6-8 ani. Inovația va fi aplicată periodic, fără restricții de gen, loc de reședință, stare socială, apartenență etnică în grădinițe și școli de către rezidenții microbiologi din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică, studenții Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”, membrii grupului de tineri din Asociația de Biosiguranță și Biosecuritate din Republica Moldova. 7. Obiecții/propuneri: Valoarea aplicativă a metodei este justificată de provocarea majoră a secolului XXI – rezistența la preparatele antimicrobiene, cu o implicație socio-economică majoră. <i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.</i> <table border="0" style="width: 100%;"><tr><td style="width: 60%;">Directoarea Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”,</td><td style="width: 40%; text-align: right;"> Mariana NEGREAN</td></tr><tr><td>Vicepreședinte Asociației de Biosiguranță și Biosecuritate din R. Moldova, dr. hab. șt. med., conf. univ.</td><td style="text-align: right;"> Cătălina CROITORU</td></tr><tr><td>Șef departament, Departamentul Cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” dr. hab. șt. med., conf. univ.</td><td style="text-align: right;"> Elena RAEVSCHI</td></tr></table>			Directoarea Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”,	 Mariana NEGREAN	Vicepreședinte Asociației de Biosiguranță și Biosecuritate din R. Moldova, dr. hab. șt. med., conf. univ.	 Cătălina CROITORU	Șef departament, Departamentul Cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” dr. hab. șt. med., conf. univ.	 Elena RAEVSCHI
Directoarea Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”,	 Mariana NEGREAN							
Vicepreședinte Asociației de Biosiguranță și Biosecuritate din R. Moldova, dr. hab. șt. med., conf. univ.	 Cătălina CROITORU							
Șef departament, Departamentul Cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” dr. hab. șt. med., conf. univ.	 Elena RAEVSCHI							



Ministerul Sănătății al Republicii Moldova
Consiliul municipal Chișinău
Direcția Generală Asistență Medicală și Socială
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE BOLI CONTAGIOASE DE COPII

MD-2028, mun. Chișinău, str. M. Lomonosov 49,
tel: 73-70-20; fax 72 31 64; e-mail: scmbcc@ms.md
<http://scmbcc.md/>

Nr. 1227 din 29.12. 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”, 2020.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BUCOV Victoria, dr. hab. șt. med., profesor universitar, HOLBAN Tiberiu dr. hab. șt. med., profesor universitar, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Spitalul Clinic Municipal de Boli Contagioase de Copii.
4. **Eficacitatea implementării:** Problema care o soluționează ghidul constă în stabilirea principiilor și procedurilor în testarea hemoculturilor, recomandărilor specifice aliniate la rigorile europene privind colectarea, transportarea, investigarea microbiologică, interpretarea rezultatelor hemoculturii și indicarea terapiei antimicrobiene justificate.
5. **Rezultatul implementării:** Ghidul practic este utilizat de medici clinicieni și dispune de informații veridice, indicarea, interpretarea rezultatelor în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor de flux sangvin asociate asistenței medicale.

Director IMSP SCMBCC
dr. șt. med., conf. univ.



Ludmila BÎRCA



Ministerul Sănătății al Republicii Moldova
Consiliul municipal Chișinău
Direcția Generală Asistență Medicală și Socială
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE BOLI CONTAGIOASE DE COPII

MD-2028, mun. Chișinău, str. M. Lomonosov 49,
tel: 73-70-20; fax 72 31 64; e-mail: scmbcc@ms.md
<http://scmbcc.md/>

Nr. 1229 din 29.12 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPÎNU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
7. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Spitalul Clinic Municipal de Boli Contagioase de Copii.
3. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului respirator deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului respirator.
4. **Rezultatul implementării:** Ghidul practic este utilizat de medici clinicieni și dispune de informații veridice, indicarea, interpretarea rezultatelor în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor tractului respirator asociate asistenței medicale.

Director IMSP SCMBCC
dr. șt. med., conf. univ.



Ludmila BÎRCA



MD-2025, Republic of Moldova,
municipiul Chișinău str. Constantin Virăv 13
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md

MD-2025, Republic of Moldova
13, Constantin Virăv, street, Chișinău
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md

29.12.2022 nr. 02/2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”, 2020.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BUCOV Victoria, dr. hab. șt. med., profesor universitar, HOLBAN Tiberiu dr. hab. șt. med., profesor universitar, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”
4. **Eficacitatea implementării:** Problema care o soluționează ghidul constă în stabilirea principiilor și procedurilor în testarea hemoculturilor, recomandărilor specifice aliniate la rigorile europene privind colectarea, transportarea, investigarea microbiologică, interpretarea rezultatelor hemoculturii și indicarea terapiei antimicrobiene justificate
5. **Rezultatul implementării:** Ghidul practic este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți, în standardizarea metodologiei privind procesarea și investigarea microbiologică a hemoculturilor în infecțiile de flux sangvin. Medicii clinicieni dispun de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor de flux sangvin asociate asistenței medicale.

Director Institutului de Ftiziopneumologie
"Chiril Draganiuc" din Chișinău
dr. șt. med., conf. univ.



Rusu Doina

RUSU Doina

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor”, 2020.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BUCOV Victoria, dr. hab. șt. med., profesor universitar, HOLBAN Tiberiu dr. hab. șt. med., profesor universitar, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** SC IMUNOTEHNOMED, SRL (Rețeaua Națională de de laboratoare medicale MedExpert).
4. **Eficacitatea implementării:** Problema care o soluționează ghidul constă în stabilirea principiilor și procedurilor în testarea hemoculturilor, recomandărilor specifice aliniate la rigorile europene privind colectarea, transportarea, investigarea microbiologică, interpretarea rezultatelor hemoculturii și indicarea terapiei antimicrobiene justificate.
5. **Rezultatul implementării:** Ghidul practic este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți, în standardizarea metodologiei privind procesarea și investigarea microbiologică a hemoculturilor în infecțiile de flux sangvin. Medicii clinicieni dispun de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor de flux sangvin asociate asistenței medicale.

Director general
SC IMUNOTEHNOMED, SRL
(Rețeaua Națională de de laboratoare
medicale MedExpert)


 RĂȚĂ Sergiu



MD-2025, Republica Moldova,
municipiul Chișinău str. Constantin Virnav 13
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md.

MD-2025, Republic of Moldova
13, Constantin Virnav, street, Chisinau
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md

29.12.2025 nr. 01-a/2025

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPÎNU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului respirator deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului respirator.
5. **Rezultatul implementării:** Ghidul este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți în investigarea microbiologică a biosubstratelor prelevate de la pacienți cu infecții al tractului urinar. Medicii clinicieni vor dispune de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor tractului respirator asociate asistenței medicale.

Director Institutului de Ftiziopneumologie
„Chiril Draganiuc” din Chișinău
dr. șt. med., conf. univ.



Rusu Doina

RUSU Doina

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPINU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
7. **Unde și când a fost implementată:** SC IMUNOTEHNOMED.SRL (Rețeaua Națională de de laboratoare medicale MedExpert).
3. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chirilă Drăganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului respirator deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului respirator.
4. **Rezultatul implementării:** Ghidul este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți în investigarea microbiologică a biosubstratelor prelevate de la pacienți cu infecții ale tractului urinar. Medicii clinicieni vor dispune de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor tractului respirator asociate asistenței medicale.

Director general
SC IMUNOTEHNOMED.SRL
(Rețeaua Națională de de laboratoare
medicale MedExpert)


RATA Sergiu





MD-2025, Republica Moldova,
municipiul Chișinău str. Constantin Viranav 13
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md

MD-2025, Republic of Moldova
13, Constantin Viranav, street, Chisinau
tel +373 22 572 200, fax + 373 22 572 205
e-mail ifp@ms.md

29.12.2022 nr. 01-2/2025

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului urinar deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului urinar.
5. **Rezultatul implementării:** Ghidul este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți în investigarea microbiologică a biosubstratelor prelevate de la pacienți cu infecții ale tractului urinar. Medicii clinicieni vor dispune de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor urinare asociate asistenței medicale.

Director Institutului de Ftiziopneumologie
"Chiril Draganiuc" din Chișinău
dr. șt. med., conf. univ.



[Signature]

RUSU Doina

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
6. **Unde și când a fost implementată:** SC IMUNOTEHNOMED.SRL (Rețeaua Națională de de laboratoare medicale MedExpert).
3. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului urinar deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului urinar.
4. **Rezultatul implementării:** Ghidul este utilizat de medici microbiologi, felceri laboranți în investigarea microbiologică a biosubstratelor prelevate de la pacienți cu infecții al tractului urinar. Medicii clinicieni vor dispune de informații veridice, în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor urinare asociate asistenței medicale.

Director general
SC IMUNOTEHNOMED.SRL
(Rețeaua Națională de de laboratoare
medicale MedExpert)


RATĂ Sergiu





2025, mun. Chișinău, str. N. Testemițanu, 28
tel. 72-58-66, fax. 22-66-53
www.ccmf.md
e-mail: cancelarie@ccmf.md

2025, г. Кишинев, ул. Тестемицану, 28
тел. 72-58-66, факс. 22-66-53
www.ccmf.md
e-mail: cancelarie@ccmf.md

19.01.2023 nr. 00-10/12

INSTITUTULUI NAȚIONAL DE
CERCETARE ÎN MEDICINĂ ȘI
SĂNĂTATE
USMF „N. TESTEMIȚANU”

Prin prezenta, Centrul de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”, în contextul implementării inovației Nr. 5966 din 12 decembrie 2022 „Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene”, elaborată de autorii: ANTON Maria, cercet. șt., stagiar, PERJERU Maria, cercet. șt., stagiar, LOZNEANU Irina, cercet. șt., stagiar, ȚAPU Livia, cercet. șt., stagiar, CROITORU Cătălina, dr. șt. med., conf. univ, BALAN Greta, dr. șt. med., conf. univ., BURDUNIUC Olga, dr. șt. med., conf. cercet., confirmă realizarea activității de creștere a gradului de conștientizare privind prevenirea rezistenței la antimicrobiene pentru copiii grupei pregătitoare. Totodată, activitățile realizate au favorizat dezvoltarea abilităților de comunicare coerente la elevii Centrului de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo” privind bunele practici ce țin de măsurile de prevenirea infecțiilor și a rezistenței microorganismelor la antimicrobiene (ex.: respectarea igienei mâinilor, evitarea locurilor aglomerate, aeresirea încăperilor, vaccinarea ș.a).

Valoarea aplicativă a inovației este justificată de provocarea majoră a secolului XXI – rezistența microorganismelor la preparatele antimicrobiene, cu o impact socio-economic major, condiționată de dezvoltarea bunelor practici prevenirea infecțiilor, consumul rațional de antimicrobiene și măsurile de prevenire a rezistenței la antimicrobiene.

Considerăm, că rezultatele implementării acestei inovații au trezit motivația copiilor, care s-au arătat interesați, emoționați și curioși prin punerea întrebărilor suplimentare.

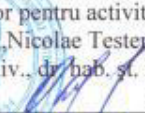
Broșura elaborată pe marginea inovației „Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene” poate fi considerată un instrument util în dezvoltarea competențelor profesionale vizând prevenirea rezistenței la antimicrobiene la viitorii specialiști cu studii post-secundare și postsecundare nonterțiare.



Directoare

Mariana NEGREAN



APROB
Prim prorector,
prorector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI
„28 decembrie” 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE
(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPÎNU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Catedra de Boli infecțioase a Universității de Stat de medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor specialitatea boli infecțioase, medicina de familie va permite formarea specialiștilor, dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecție de tract respirator.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului respirator în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Catedra de Boli infecțioase,
dr. hab. șt. med., conf univ.

PLĂCINTĂ Gheorghe

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



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

1
Pag. / 4

APROB

Prim prorector,
prorector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI

„28” decembrie 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPÎNU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală a Universității de Stat de medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor specialitatea boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală va permite formarea specialiștilor dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecție de tract respirator.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului respirator în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Catedra de boli infecțioase,
tropicale și parazitologie medicală
dr. hab. șt. med., profesor univ.

HOLBAN Tiberiu

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



APROB

Prim prorector,

prorector pentru activitate didactică,

USMF „Nicolae Testemițanu” din RM

prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI

2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului respirator”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, SPÎNU Constantin dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Departamentul Medicină Preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor specialitatea Microbiologie și imunologie va permite dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecție de tract respirator.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului respirator în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Departamentul Medicină Preventivă
dr. hab. șt. med., conf. univ.

CEBANU Serghei

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



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

1
Pag. / 4

APROB

Prim prorector,
prorector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI

19 decembrie 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE
(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală, USMF „Nicolae Testemițanu”.
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă specialitatea boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală va permite formarea specialiștilor dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecție de tract urinar.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului urinar în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Catedra de boli infecțioase,
tropicale și parazitologie medicală
dr. hab. șt. med., profesor univ.

HOLBAN Tiberiu

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



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

Pag. 1 / 1

APROB
Prim prorector,
prorector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI
28 decembrie 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE
(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatolie, dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Catedra de Medicină de laborator, USMF „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor specialitatea Medicina de laborator va permite formarea specialiștilor dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecții de tract urinar.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului urinar în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Catedra de Medicină de laborator,
USMF „Nicolae Testemițanu”
dr. hab. șt. med., profesor universitar,

VIȘNEVSCHI Anatolie

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



APROB

Prim prorector,
prorector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Olga CERNEȚCHI

„28” decembrie 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Departamentul Medicină Preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor, specialitatea Microbiologie și imunologie, va permite formarea la specialiști a competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul cazului de infecție de tract urinar.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului urinar în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Departamentul Medicină Preventivă
dr. hab. șt. med., conf. univ.

CEBANU Serghei

Șef Departamentul
Didactic și Management Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



APROB
Prim protector,
protector pentru activitate didactică,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
prof. univ., dr. hab. și med.
Olga CERNEȚCHI
24 Decembrie 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE
(în procesul didactic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil, dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
3. **Unde și când a fost implementată:** Catedra de urologie și nefrologie chirurgicală, USMF „Nicolae Testemițanu”
4. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului ca material didactic pentru instruirea universitară, precum și în educația medicală continuă a medicilor la specialitatea Urologie, Andrologie și Nefrologie va permite formarea specialiștilor, dezvoltarea competențelor privind principiile, procedurile, tehnicile de recoltarea a biosubstratelor, metodologiile de diagnostic în timp util și managementul eficient a cazului de infecții de tract urinar.
5. **Rezultatul implementării:** Este indiscutabil impactul și contribuția implementării ghidului în formarea studenților, medicilor rezidenți și în educația medicală continuă a medicilor ceea va permite standardizarea, actualizarea continuă a metodelor utilizate, stabilirea diagnosticului veridic, luarea deciziilor privind indicarea terapiei antimicrobiene justificate în infecțiile tractului urinar în vederea combaterii dezvoltării rezistenței microorganismelor la antimicrobiene.

Șef Catedra de urologie și
nefrologie chirurgicală,
dr. hab. șt. med., profesor univ.

TĂNASE Adrian

Șef departament, Departamentul
Didactic și Managementul Academic,
conf. univ., dr. șt. med.

STRATULAT Silvia



Ministerul Sănătății al Republicii Moldova
Consiliul municipal Chișinău
Direcția Generală Asistență Medicală și Socială
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE BOLI CONTAGIOASE DE COPII

MD-2028, mun. Chișinău, str. M. Lomonosov 49,
tel: 73-70-20; fax 72 31 64; e-mail: scmbcc@ms.md
<http://scmbcc.md/>

Nr. 1228 din 29.12. 2022

ACTUL DE IMPLEMENTARE

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** Ghidul „Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar”, 2021.
2. **Autori:** BURDUNIUC Olga dr. șt. med., conferențiar cercetător, CEBAN Emil. dr. hab. șt. med., profesor universitar, BĂLAN Greta dr. șt. med., conferențiar universitar, PLĂCINTĂ Gheorghe dr. hab. șt. med., profesor universitar, VIȘNEVSCHI Anatol dr. hab. șt. med., profesor universitar, SOFRONIE, Olga cercetător științific, BIVOL Maria cercetător științific.
6. **Unde și când a fost implementată:** IMSP Spitalul Clinic Municipal de Boli Contagioase de Copii.
3. **Eficacitatea implementării:** Aplicarea ghidului în practică laboratorului Microbiologic al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” soluționează problema ce ține de principiile, procedurile, tehnicile de recoltare a biosubstratelor de la pacienți cu infecții ale tractului urinar deoarece oferă metodologii standardizate de diagnostic aliniate la rigorile internaționale ce permite indicarea terapiei antimicrobiene justificate și managementul eficient a cazului de infecție al tractului urinar.
4. **Rezultatul implementării:** Ghidul practic este utilizat de medici clinicieni și dispune de informații veridice, indicarea, interpretarea rezultatelor în timp util pentru ghidarea argumentată și optimizarea terapiei empirice antimicrobiene pe modele de susceptibilitate instituțională. Iar datele obținute în baza implementării ghidului servesc ca suport în monitorizarea succesului tratamentului antimicrobian, planificarea și realizarea intervențiilor în vederea prevenirii, controlul infecțiilor urinare asociate asistenței medicale.

Director IMSP SCMBCC
dr. șt. med., conf. univ.



Ludmila BÎRCA

Anexa 9. Diplome și distincții







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



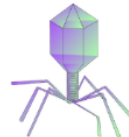
CERTIFICAT

Se acordă

Maria Anton

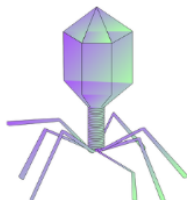


pentru participare la

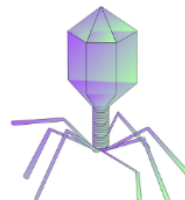


CONFERINȚA ȘTIINȚIFICĂ

***Sănătatea și fenomenul rezistenței la antimicrobiene în
țările cu venituri mici și medii din Europa de Est
ediția a II-a***



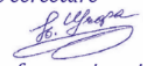
Rezultatele proiectului **PhageLand**



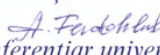
4 Octombrie 2024

Chișinău, Republica Moldova

*Prorector pentru activitate
de cercetare*


Stanislav Groppa,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.,
academician al AȘM, președinte al
Comitetului științific al Conferinței

Director de țară al Proiectului PhageLand

 **Ferdohleb Alina,**
conferențiar universitar, dr. șt. med.,
Președintele Conferinței Proiectului
transnațional multilateral PhageLand

**LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRIILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE
a dnei Anton Maria (Bivol), realizate la teza de doctor în științe medicale
cu tema” Rezistența la beta-lactamine a bacililor gram-negativi izolați din biosubstrate
clinice”, Programul de doctorat 313.02-Microbiologie, Virusologie medicală,
Conducător de doctorat: Olga Burduniuc, dr. hab. șt. med., conf, cerc.**

• **Articole în reviste științifice peste hotare:**

✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale***

1. Revenco N., Bujor D., Balanuta A.M., Horodisteanu-Banuh A., Cirstea O., Holban A., Rotari A., Burduniuc O., **Anton M.** Bacterial agents associated with acute lower respiratory infections in children under five years of age in the Republic of Moldova. In: *Archives of the Balkan Medical Union*, december 2023, no. 4, vol. 58, pp. 335-340. ISSN 1584-9244. (IF:1,9) <https://doi.org/10.31688/ABMU.2023.58.4.04>
2. **Anton (Bivol) M.**, Pantea L., Burduniuc (Popa) O., Chilianu M., Bucov V., Tapu L. Evaluation of costs related to antimicrobial resistance of priority Gramnegative bacilli. In: *One Health and Risk Management*, 2024, vol. 5, nr. 1, pp. 43-50. ISSN 2587-3458. DOI: <https://doi.org/10.38045/ohrm.2024.1.06>
3. **Anton M.** The genetic basis of gram-negative bacteria resistant to antimicrobials isolated from invasive infections in the Republic of Moldova. In: *One Health & Risk Management*, 2024, 5(2), pp. 34-41. <https://doi.org/10.38045/ohrm.2024.2.04>
4. Linkevicius M., Alm E., Roer L., Svartström O., Dada-Olorunwa M., Räisänen K., Reichert F., Möller S., Clarke C., Cormican M., Niedre-Otomere B., Vangravs R., Greičius P., Burduniuc O., **Anton M.**, Hendrickx P.A., Witteveen S., Müller V., Palm D., Plachouras D., Monnet D.L., Hasman H., Kohlenberg A. Cross-border spread of a mosaic resistance (OXA-48) and virulence (aerobactin) plasmid in *Klebsiella pneumoniae*: a European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network investigation, Europe, February 2019 to October 2024. In: *Euro Surveill.* 2025; 30(27):pii=2500439. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2025.30.27.2500439>

✓ **articole în reviste din străinătate recenzate**

5. **Anton M.** The perspectives of whole genome sequencing in strengthening the outbreak investigations and public health surveillance. In: *Romanian Archives of Microbiology and Immunology (RoAMI)*, 2023, vol 82(1), pp. 25-34. Category B+. ISSN 2601-9418. DOI: [10.54044/rami.2023.01.04](https://doi.org/10.54044/rami.2023.01.04)

Autor:

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nistoreanu

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B**

6. Behta E., Burduniuc (Popa) O., Bucov V., Craciun O., **Bivol M.**, Burduniuc A., Brînza O., Grumeza M., Balan G. Antimicrobial discovery – impact of the natural sources. In: *Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii)*, 2020, nr. 6(136), pp. 39-48. ISSN 1814-3237. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4431529>
7. Bucov, V.; Burduniuc, O.; Balan, G.; Grumeza, M.; Craciun O.; **Bivol, M.** Rezistența la antimicrobiene. Caracteristica rezistenței la preparate antimicrobiene a bacteriilor gram-negative. În: *Sănătate Publică Economie și Management în Medicină*. Chișinău. 2021, 1 (88), 50-56. ISSN 1729-8687. [https://doi.org/10.52556/2587-3873.2021.1\(88\).06](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2021.1(88).06)
8. **Anton M.**, Burduniuc A., Croitoru C., Behta E., Balan G. Rezistența la antimicrobiene a *E. coli* și *K. pneumoniae* izolate de la pacienții cu infecții ale tractului urinar. In: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină* , 2023, nr. 4(97_S), pp. 145-149. ISSN 1729-8687. DOI: [https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4\(97\).25](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4(97).25)
9. **Anton M.**, Tapu L., Balan G., Bucov, V., Burduniuc (Popa) O., Lozneau I., Perjeru M., Colac S. Evaluarea pattern-urilor de rezistență a bacililor gram-negativi prioritari izolați din biosubstrate clinice. In: *Arta Medica*, 2023, nr. 4(89), pp. 67-71. ISSN 1810-1852. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429464>
10. Pantea L., Croitoru C., Burduniuc O., Balan G., **Anton M.** Features of the economic impact of antimicrobial resistance elucidated in scientific publications. In: *Arta Medica* , 2023, nr. 4(89), pp. 35-45. ISSN 1810-1852. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429356>
11. **Anton M.**, Iaconi O.S., Perjeru M., Ceban V., Beleacov E., Burduniuc O. Knowledge, attitudes and behaviors of the population of Chisinau municipality regarding the use of antibiotics. In: *Mold J Health Sci.* 2025;12(1):35-40. <https://doi.org/10.52645/MJHS.2025.1.06>
12. Burduniuc (Popa) O., Lupu M., Bucov V., Tapu L., **Anton (Bivol) M.**, Colac S. Secvențierea metagenomică în diagnosticul rezistenței la antimicrobiene. In: *Revista de Știință, Inovare, Cultură și Artă „Akademos”*, 2024, nr. 2(73), pp. 84-90. ISSN 1857-0461. DOI: 10.52673/18570461.24.2-73.08

- **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

- ✓ **internaționale desfășurate în Republica Moldova**

Autor: _____

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nistoreanu _____

13. Tapu L., Colac S., **Anton (Bivol) M.**, Lupu M., Burduniuc (Popa) Bucov V. Unele aspecte de utilizare a tehnologiilor metagenomice: diagnosticul infecțiilor și supravegherea rezistenței la antimicrobiene. În: Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine. Supliment al revistei științifice „*Authentication and Conservation of Cultural Heritage. Research and Technique*”, Volumul 8, Iași-Chișinău-Lviv, 19-20 septembrie 2024, pp. 565 – 569. ISSN 2558-894X.

• **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice internaționale**

1. **Anton M.** Analiza filogenetică a tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae* izolate din sânge. În: Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine. Supliment al revistei științifice „*Authentication and Conservation of Cultural Heritage. Research and Technique*”, Chișinău. Iași-Chișinău-Lviv: 11-12 februarie 2025, Ediția 11, p. 364. ISSN 2558 – 894X.
2. **Anton M.** Evaluarea rezistenței *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* la diferite clase de antibiotice în ultimii 10 ani. În: Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine. Supliment al revistei științifice „*Authentication and Conservation of Cultural Heritage. Research and Technique*”, Chișinău. Iași-Chișinău-Lviv: 11-12 februarie 2025, Ediția 11, p. 470. ISSN 2558 – 894X.

• **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională**

3. Burduniuc O., **Bivol M.**, Brinza O., Craciun O., Balan G. Emergence of carbapenem-resistant enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. *One Health & Risk Management (Materials of the National Scientific Conference with international participation „One health” approach in a changing world)*, 2021, 2(4S), p. 29. Available at: <https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/193>
4. **Anton M.**, Mihalachi N., Burduniuc O. Analysis of antimicrobial resistance in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae*, In: *One Health & Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „O singură sănătate – realizări și provocări”)*, 2023, nr.2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 12. Available at: <https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/591>

Autor:

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nistoreanu

5. **Anton M.**, Burduniuc O., Neronova N., Balan G. Antimicrobial resistance analysis of clinical *Escherichia coli*. *One Health & Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „O singură sănătate – realizări și provocări”)*, 2023, p. 49. Available at: <https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/503>
 6. Grumeza M., **Anton M.**, Burduniuc A. The role of the microbiological laboratory in diagnosing the resistance of microorganisms to antimicrobials: literature review. In: *One Health and Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „Abordarea O singură sănătate – realizări și provocări”)* 2023, nr. 2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 16. ISSN 2587-3458. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/191974_7.4.
- **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale**
7. **Anton (Bivol) M.**, Tapu L., Burac O., Lozneau I., Burduniuc O. Antimicrobial resistance of gram-negative bacilli isolated from invasive infections. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova (Culegere de rezumate ale Conferinței Științifice Anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: Calitate, excelență și performanță”)*, 2022, nr. 3 An.1(29), p. 126. ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/168324
 8. **Anton M.**, Mihalachi N., Bălan G. Caracterizarea genetică a tulpinilor de *Acinetobacter baumannii* multirezistente la antimicrobiene. În: *One Health and Risk Management (Materialele Conferinței Științifico-practice Naționale „Fiecare doză de vaccin contează”)*, Ediție specială, 2023, nr. 1(S), p.58. ISSN 2587-3458. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/183534/datacite
 9. Bunescu I., Holban T., Burduniuc O., **Anton M.**, Sinițina I. Clinical- evolutionary and diagnostic particularities in septicemia. În: *Moldovan Journal of Health Sciences, Culegere de rezumate ale Conferinței Științifice Anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: Calitate, excelență și performanță”*, 19-21 octombrie 2022, Anexa 1, p.130, ISSN 2345-1467. Disponibil la <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/24579>
- **Participări active cu comunicări/ poster la forumuri științifice:**
 - ✓ Internaționale
1. **Anton M.** Analiza filogenetică a tulpinilor de *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae* izolate din sânge. *Conferința științifică internațională „Patrimoniul cultural de ieri – implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine”*. Iași-Chișinău-Lviv, Chișinău 11-12 februarie 2025 (secțiunea 14, pag. 25)

Autor:

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nistoreanu

2. **Anton M.**, Perjeru M., Lozneanu I., Țapu L., Croitoru C., Bălan G., Burduniuc O. Method for raising the degree of awareness in children about the prevention of antimicrobial resistance. *International exhibition of innovation and technology transfer EXCELLENT IDEA – 2nd edition*. Chisinau, 18 septembrie 2023.
✓ Naționale
3. **Anton M.** Rezistența la antimicrobiene a bacililor Gram negativi izolați din infecții invazive. *Conferința științifică anuală „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. Chișinău, 19-21 octombrie 2022.
4. **Anton M.** Antimicrobiene: clasificare, mecanisme de acțiune. Rezistența microorganismelor la antimicrobiene (RAM). *Workshop medical: Programele de stewardship antimicrobial – elemente esențiale în prevenirea rezistenței la antimicrobiene, Conferința științifică anuală „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. Chișinău 19-21 octombrie 2022.
5. **Anton M.** Analiza rezistenței antimicrobiene a tulpinilor clinice de *Escherichia coli*. *Săptămâna medicală balcanică, ediția a XXXVII-a „Perspective ale medicinei balcanice în era post COVID-19”*. Chișinău 7-9 iunie 2023.
6. **Anton M.** Importanța testării microbiologică a hemoculturilor. Infecțiile invazive cu bacili gramnegativi rezistenți la antimicrobiene. *Conferința națională cu participare internațională „Actualități în pediatrie și impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor în Republica Moldova*. Chișinău, 22-23 septembrie 2023.
7. **Anton M.** Analiza rezistenței patogenilor gram-negativi non-fermentativi de importanță clinică. *Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și Sănătate: Calitate, excelență și performanță”*. Chișinău, 18-20 octombrie 2023.
8. **Anton M.** Sistemul de Supraveghere Epidemiologică a rezistenței microorganismelor la antimicrobiene în Republica Moldova. *Conferința națională cu participare internațională „Abordarea O Singură Sănătate – realizări și provocări”*. Chișinău, 23-24 noiembrie 2023.
9. **Anton M.** Analysis of antimicrobial resistance in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Conferința națională cu participare internațională „Abordarea O Singură Sănătate – realizări și provocări”*. Chișinău, 23-24 noiembrie 2023.

Autor:

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nisteanu

10. **Anton M.** Sistemul de supraveghere epidemiologică a rezistenței microorganismelor la antimicrobiene în Republica Moldova. *Conferința națională „Sănătatea și fenomenul rezistenței la antimicrobiene în țările cu venituri mici și medii din Europa de Est”*. Chișinău, 27 ianuarie 2024.
11. **Anton M.**, Perșeru M., Lozneau I., Colac S. Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene. *Nopatea tinerilor cercetători*. Chișinău, 29 septembrie 2023.

Autor:

Secretar științific al Senatului,

dr. filos. Didina Nistoreanu

Declarația privind asumarea răspunderii

Prin prezenta, subsemnata, Anton Maria declar pe propria răspundere, că teza de doctor în științe medicale cu tema “Rezistența la beta-lactamine a bacililor Gram-negativi izolați din biosubstrate clinice” este elaborată de către mine personal, materialele prezentate sunt rezultatele propriilor cercetări, nu sunt plagiate din alte lucrări științifice și nu a mai fost prezentată la o instituție de învățământ superior din țară sau străinătate.

De asemenea, declar că toate sursele utilizate, inclusive din Internet, sunt indicate în teza de licență, cu respectarea regulilor de evitare a plagiatului:

- ✓ toate fragmentele de text reproduse exact, chiar și în traducere proprie din alta limbă, sunt scrise cu referința asupra sursei originale;
- ✓ reformularea în cuvinte proprii a textelor altor autori deține referința asupra sursei originale;
- ✓ rezumarea ideilor altor autori deține referința exactă la textul original;
- ✓ metodele și tehnicile de lucru preluate din alte surse dețin referințe exacte la sursele originale.

Data _____

Doctoranda _____
(Prenume Nume)

(Semnătura)

Conducător de doctorat _____
(Prenume Nume)

(Semnătura)

ADNOTARE

La tema tezei de doctor în științe medicale a doctorandei Anton Maria: „Rezistența la beta-lactamine a bacililor Gram-negativi izolați din biosubstrate clinice”.

Specialitatea 313.02 – Microbiologie, virusologie medicală.

Actualitate. Rezistența BGN la antimicrobiene reprezintă una dintre cele mai stringente probleme de sănătate publică la nivel global. În ultimele două decenii, patogenii *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii* au dezvoltat mecanisme complexe de rezistență, incluzând producerea de beta-lactamaze cu spectru extins (ESBL) și carbapenemaze.

Scopul lucrării: Evaluarea profilurilor de rezistență la β -lactamine și stabilirea grupurilor filogenetice ale BGN prioritari cu elaborarea algoritmului metodologic standardizat de detectare a mecanismelor de rezistență.

Obiectivele lucrării: determinarea profilurilor de rezistență la antimicrobiene ale BGN izolați din diferite biosubstraturi clinice; caracterizarea moleculară a BLSE și a carbapenemazelor aferente BGN; analiza comparativă a diferitor tehnici microbiologice de identificare a BGN rezistenți la beta-lactamine cu dezvoltarea unui algoritm metodologic standardizat; propunerea de măsuri eficiente de prevenire și control a infecțiilor cauzate de BGN multirezistenți.

Noutatea și originalitatea științifică: S-a realizat un studiu complex prin utilizarea motodelor de biologie moleculară, care a permis aprecierea și evaluarea poziției BGN circulanți pe teritoriul țării în arborii filogenetici globali, lucru important pentru argumentarea tendinței evolutive a rezistenței BGN și argumentarea terapiei empirice la pacienții cu astfel de infecții.

Rezultatele obținute au stat la baza elaborării unui algoritm standardizat care urmează a fi implementat în laboratoarele microbiologice din cadrul rețelei de supraveghere a RAM.

Rezultate obținute: a fost identificat spectrul microbiologic și diversitatea genotipică a BGN prioritari, inclusiv prevalența tulpinilor de BGN producătoare de BLSE și de carbapenemaze; spectrul de enzime la BGN; tipul de secvență predominant pe teritoriul țării. A fost elaborat un algoritm standardizat de determinare a markerilor rezistenței și propuse de măsuri îmbunătățire pentru supravegherea și controlul RAM bazate pe dovezi

Semnificația teoretică: Studiul realizat va aduce un aport semnificativ la actualizarea și metodologiei de determinare a mecanismelor de rezistență la preparatele antimicrobiene.

Valoarea aplicativă: Rezultatele au fost incluse în programele de învățământ pentru studenți, rezidenți și medici. De asemenea au fost elaborate materiale utile, inclusiv ghiduri pentru îndrumarea medicilor în activitatea profesională și pliante informative pentru conștientizarea populației despre problema RAM.

Implementarea rezultatelor științifice: elaborarea algoritmului de determinare a mecanismelor de rezistență la antimicrobiene ale BGN; elaborarea a 3 ghiduri pentru personal medical și implementarea lor în diferite instituții medicale și o indicație metodică inclusă în programul de instruire pentru studenți, rezidenți și în cadrul cursurilor de specializare.

Structura tezei: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie (165) titluri, 9 anexe, 65 pagini de text de bază, 14 tabele și 31 figuri. Rezultatele sunt publicate în 28 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: bacili Gram-negativi, rezistența la antimicrobiene, mecanisme de rezistență, beta-lactamaze cu spectru extins, carbapenemaze.

ANNOTATION

For the doctoral thesis in medical sciences of the PhD candidate Anton Maria: “Beta-actam Resistance of Gram-negative Bacilli Isolated from Clinical Biosubstrates.”

Specialty 313.02 – Microbiology, Medical Virology.

Relevance. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli (GNB) is one of the most pressing global public health challenges. Over the past two decades, pathogens such as *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii* have developed complex resistance mechanisms, including the production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and carbapenemases.

Aim: To evaluate the β -lactam resistance profiles and establish the phylogenetic groups of priority GNB, with the development of a standardized methodological algorithm for detecting resistance mechanisms.

Objectives: determination of antimicrobial resistance profiles of GNB isolated from various clinical biosubstrates; molecular characterization of ESBLs and carbapenemases in GNB; comparative analysis of different microbiological techniques used to identify beta-lactam-resistant GNB and development of a standardized methodological algorithm; proposal of effective measures for the prevention and control of infections caused by multidrug-resistant GNB.

Scientific novelty and originality: A comprehensive study was carried out using molecular biology methods, allowing the assessment and positioning of circulating GNB in the country within global phylogenetic trees—an important aspect for understanding the evolutionary trends of GNB resistance and justifying empirical therapy in patients with such infections.

The obtained results formed the basis for developing a standardized algorithm to be implemented in microbiology laboratories within the national AMR surveillance network.

Results obtained: The microbiological spectrum and genotypic diversity of priority GNB were identified, including the prevalence of ESBL- and carbapenemase-producing strains; the spectrum of resistance enzymes; and the predominant sequence type circulating in the country. A standardized algorithm for determining resistance markers was developed, and evidence-based improvements for AMR surveillance and control were proposed.

Theoretical significance: The study provides a significant contribution to updating and improving the methodology for determining antimicrobial resistance mechanisms.

Practical value: The results have been included in educational programs for students, residents, and physicians. Useful materials were developed, including guidelines for assisting healthcare professionals in their practice and informational leaflets to raise public awareness about AMR.

Implementation of scientific results: Development of an algorithm for determining antimicrobial resistance mechanisms in GNB; elaboration of three guidelines for healthcare personnel and their implementation in various medical institutions; and preparation of a methodological instruction included in training programs for students, residents, and specialization courses.

Structure of the thesis: Introduction, four chapters, general conclusions and recommendations, bibliography (165 titles), 9 appendices, 65 pages of main text, 14 tables, and 31 figures. The results are published in 28 scientific works.

Keywords: Gram-negative bacilli, antimicrobial resistance, resistance mechanisms, extended-spectrum beta-lactamases, carbapenemases.

	
INFORMAȚII PERSONALE	
Nume / Prenume	Anton Maria
 Adresă(e)	r-nul Căușeni, s. Baimaclia, str. Trandafirilor 425
 Telefon(oane)	 Mobil: (+373 69) 617863
 E-mail(uri)	maria.bivol9@gmail.com
	Skype bivolmaria91
Naționalitate	Republica Moldova
Data nașterii	07 martie 1991
Sex	Feminin
EXPERIENȚA PROFESIONALĂ	
Perioada	2025 prezent
Funcția sau postul ocupat	<i>Șef laborator, Laboratorul Național de referință în infecții cu risc sporit (cu statut de direcție)</i>
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova
Tipul activității sau sectorul de activitate	<i>Organizarea și asigurarea activității de laborator. Diagnosticul microbiologic al infecțiilor cu risc sporit.</i>
Perioada	2023 - 2024
Funcția sau postul ocupat	<i>Șef laborator, Laboratorul Microbiologic, Direcția Diagnostic de Laborator în Sănătate Publică</i>
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova
Tipul activității sau sectorul de activitate	<i>Organizarea și asigurarea activității de laborator. Diagnosticul microbiologic al infecțiilor respiratorii, intestinale și zooantroponozelor.</i>
Perioada	2020 - 2023
Funcția sau postul ocupat	Cercetător științific stagiar, Direcția Cercetare și Inovare
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova
Tipul activității sau sectorul de activitate	Efectuarea investigațiilor pentru determinarea microorganismelor rezistente la preparatele antimicrobiene.
Perioada	2021 - 2023

Funcția sau postul ocupat	Medic specialist în laboratorul Microbiologic, Direcția Diagnostic de Laborator în Sănătate Publică					
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova					
Tipul activității sau sectorul de activitate	Efectuarea investigațiilor microbiologice.					
Perioada	2018 - 2021					
Funcția sau postul ocupat	Medic rezident microbiolog în laboratorul Microbiologic, Direcția Diagnostic de Laborator în Sănătate Publică					
Numele și adresa angajatorului	Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova					
Tipul activității sau sectorul de activitate	Efectuarea investigațiilor microbiologice.					
Perioada	2017 - 2018					
Funcția sau postul ocupat	Felcer laborant în laboratorul microbiologic Bolil extrem de contagioase, diareice acute și zooantroponoze.					
Numele și adresa angajatorului	Centrul Național de Sănătate Publică, Republica Moldova					
Tipul activității sau sectorul de activitate	Prelucrarea materialului biologic					
Perioada	2015-2017					
Funcția sau postul ocupat	Asistent epidemiolog în Secția Monitorizare a alertelor de sănătate publică a CNSP					
Numele și adresa angajatorului	Centrul Național de Sănătate Publică, Republica Moldova					
Tipul activității sau sectorul de activitate	Monitorizarea alertelor de sănătate publică cu elaborarea măsurilor de control și răspuns.					
Perioada	2012					
Funcția sau postul ocupat	Asistentă medicală în secția pulmonologie a IMSP SCM „Sf. Arhanghel Mihail”					
Numele și adresa angajatorului	IMSP SCM „Sf. Arhanghel Mihail”					
Tipul activității sau sectorul de activitate	asistența medicală a bolnavilor cu patologii ale aparatului respirator					
Limba maternă	Română					
Limbi străine cunoscute	rusa, engleza					
Autoevaluare		Înțelegere		Vorbire		Scriere
		Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	Expri mare scrisă

Limba rusă		C2	C2	C2	C2	C1
Limba engleză		A2	A2	A2	A2	A2
COMPETENȚE ȘI APTITUDINI ORGANIZATORICE/MANAGERIALE		• Capacitate de analiză și sinteză. • Lucru în echipă • Punctualitate • Colaborare • Responsabilitate				
Informații suplimentare	Căsătorită, medic rezident microbiolog, anul III, Sănătate Publică, USMF „Nicolae Testemițanu”					
Competențe și aptitudini PC	Windows, MS Office applications: Word, Excel, Power Point					
INFORMAȚII ADIȚIONALE	<i>Articole în reviste științifice peste hotare:</i> 1. Anton M. The perspectives of whole genome sequencing in strengthening the outbreak investigations and public health surveillance. In: Romanian Archives of Microbiology and Immunology (RoAMI), 2023, vol 82(1), pp. 25-34. Category B+. ISSN 2601-9418 <i>Articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale</i> 1. Revenco N., Bujor D., Balanuta A.M., Horodisteanu-Banuh A., Cirstea O., Holban A., Rotari A., Burduniuc O., Anton M. Bacterial agents associated with acute lower respiratory infections in children under five years of age in the Republic of Moldova. In: Archives of the Balkan Medical Union, december 2023, no. 4, vol. 58, pp. 335-340. ISSN 1584-9244. (IF:1,9) https://doi.org/10.31688/ABMU.2023.58.4.04 <i>Articole în reviste științifice naționale acreditate: de categoria A</i> 1. Anton (Bivol) M., Pantea L., Burduniuc (Popa) O., Chilianu M., Bucov V., Tapu L. Evaluation of costs related to antimicrobial resistance of priority Gramnegative bacilli. In: One Health and Risk Management, 2024, vol. 5, nr. 1, pp. 43-50. ISSN 2587-3458. DOI: https://doi.org/10.38045/ohrm.2024.1.06 (indexat SCOPUS) 2. Anton M. The genetic basis of gram-negative bacteria resistant to antimicrobials isolated from invasive infections in the Republic of Moldova. In: One Health & Risk Management, 2024, 5(2), pp. 34-41. doi: 10.38045/ohrm.2024.2.04. (indexat SCOPUS)					

**INFORMAȚII
ADITIONALE**

de categoria B+/B

1. Behta E, Burduniuc O, Bucova V, Crăciun O, Bivol M, Burduniuc A, Brînză O, Grumeza M, Bălan G. Antimicrobial discovery - impact of natural sources. În: Studia Universitatis Moldaviae. Cgișinău, 2020, nr.4(131), Seria "Științe reale ale naturii", p. 263-278. ISSN 1814-3237 ISSN Online 1857.
2. Bucov, V.; Burduniuc, O.; Balan, G.; Grumeza, M.; Craciun O.; Bivol, M. Rezistența la antimicrobiene. Caracteristica rezistenței la preparate antimicrobiene a bacteriilor gram-negative. În: Sănătate Publică Economie și Management în Medicină. Chișinău. 2021, 1 (88), 50-56. ISSN 1729-8687. (categoria B)
3. Anton M., Burduniuc A., Croitoru C., Behta E., Balan G. Rezistența la antimicrobiene a E. coli și K. pneumoniae izolate de la pacienții cu infecții ale tractului urinar. In: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină , 2023, nr. 4(97_S), pp. 145-149. ISSN 1729-8687. DOI: [https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4\(97\).25](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2023.4(97).25)
4. Anton M., Tapu L., Balan G., Bucov, V., Burduniuc (Popa) O., Lozneau I., Perjeru M., Colac S. Evaluarea pattern-urilor de rezistență a bacililor gram-negativi prioritari izolați din biosubstrate clinice. In: Arta Medica, 2023, nr. 4(89), pp. 67-71. ISSN 1810-1852. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429464>
5. Pantea L., Croitoru C., Burduniuc O., Balan G., Anton M. Features of the economic impact of antimicrobial resistance elucidated in scientific publications. In: Arta Medica , 2023, nr. 4(89), pp. 35-45. ISSN 1810-1852. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10429356>
6. Anton M., Iaconi O.S., Perjeru M., Ceban V., Beleacov E., Burduniuc O. Knowledge, attitudes and behaviors of the population of Chisinau municipality regarding the use of antibiotics. In: Moldovan Journal of Health Sciences, 2024.

Aprobat spre publicare

Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice internaționale

1. Balan, G., Behta, E., Tapu, L., Tighinean, C., Bivol, M., Burduniuc, O. Mechanisms of antimicrobial resistance specific for Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. In: Scientific Collection «InterConf»: INTERNATIONAL FORUM: PROBLEMS AND SCIENTIFIC SOLUTIONS), (2022). (97). Retrieved from <https://ojs.ukrlogos.in.ua/index.php/interconf/article/view/18399>

	2. Bujor D., Revenco N., Balanuta A.-M., Burduniuc O., Bivol M., Holban A., Cirstea O., Horodisteanu-Banuh A. Bacterial etiological agents associated with acute respiratory infections in children under 5 years of age in the Republic of Moldova. In: Abstract book The 37th Balkan medical week “Perspectives of the balkan medicine in the post-Covid-19 era”, Chisinau, Republic of Moldova, June 7-9, 2023. ISSN 1584-9244 (p.246) <i>Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale</i> 1. Anton (Bivol) M., Tapu L., Burac O., Lozneanu I., Burduniuc O. Antimicrobial resistance of gram-negative bacilli isolated from invasive infections. In: Revista de Științe ale Sănătății din Moldova (Culegere de rezumate ale Conferinței Științifice Anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: Calitate, excelență și performanță”), 2022, nr. 3 An.1(29), p. 126. ISSN 2345-1467. 2. Anton M., Mihalachi N., Bălan G. Caracterizarea genetică a tulpinilor de <i>Acinetobacter baumannii</i> multirezistente la antimicrobiene. În: One Health and Risk Management (Materialele Conferinței Științifico-practice Naționale „Fiecare doză de vaccin contează”), Ediție specială, 2023, nr. 1(S), p.58. ISSN 2587-3458 3. Bunesco I., Holban T., Burduniuc O., Anton M., Sinișna I. Clinical- evolutionary and diagnostic particularities in septicemia. În: Moldovan Journal of Health Sciences, Culegere de rezumate ale Conferinței Științifice Anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: Calitate, excelență și performanță”, 19-21 octombrie 2022, Anexa 1, p.130, ISSN 2345-1467. Disponibil la https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/24579 <i>Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională</i> 1. Burduniuc O., Bivol M., Brinza O., Craciun O., Balan G. Emergence of carbapenem-resistant enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. One Health & Risk Management (Materials of the National Scientific Conference with international participation „One health” approach in a changing world), 2021, 2(4S), p. 29. Available at: https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/193 (Accessed: 23December2024). 2. Anton M., Mihalachi N., Burduniuc O. Analysis of antimicrobial resistance in clinical strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i>”, One Health & Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „O singură sănătate – realizări și provocări”), 2023, nr.2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 12. Available at: https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/591 (Accessed: 23December2024).
--	--

	3. Anton M., Burduniuc O., Balan G., Neronova N. Antimicrobial resistance analysis of clinical Escherichia coli. One Health & Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „O singură sănătate – realizări și provocări”), 2023, p. 49. Available at: https://journal.ohrm.bba.md/index.php/journal-ohrm-bba-md/article/view/503 (Accessed: 23December2024). 4. Spătaru D., Anton M. Situația epidemiologică prin salmoneloza umană în Republica Moldova. In: One Health & Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „Abordarea O singură sănătate – realizări și provocări”), 2023, nr. 2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 62. ISSN 2587-3458. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/192115 5. Grumeza M., Anton M., Burduniuc A. The role of the microbiological laboratory in diagnosing the resistance of microorganisms to antimicrobials: literature review. In: One Health and Risk Management (Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională „Abordarea O singură sănătate – realizări și provocări”) 2023, nr. 2(S_Rez), supl. nr. 1, p. 16. ISSN 2587-3458. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/191974 7.4. <i>Participări active cu comunicări/ poster la forumuri științifice: Internaționale</i> 1. International exhibition of innovation and technology transfer EXCELLENT IDEA – 2023, 2nd edition, Chisinau. Anton M., Perjeru M., Lozneau I., Țapu L., Croitoru C., Bălan G., Burduniuc O. Method for raising the degree of awareness in children about the prevention of antimicrobial resistance. Medalie de argint. 2. Participare la Conferința științifică anuală „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță, desfășurată la 19-21 octombrie 2022, Chișinău (Republica Moldova), cu lucrarea „Rezistența la antimicrobiene a bacililor Gram negativi izolați din infecții invazive” 3. Participare în cadrul Săptămânii medicale balcanice, ediția a XXXVII-a „Perspective ale medicinei balcanice în era post COVID-19”, desfășurată în perioada 7-9 iunie, 2023, Chișinău (Republica Moldova), cu lucrarea „Analiza rezistenței antimicrobiene a tulpinilor clinice de Escherichia coli” (30 credite) 4. Participare la Conferința națională cu participare internațională „Actualități în pediatrie și impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor în Republica Moldova”, desfășurată la 22-23 septembrie 2023, Chișinău (Republica Moldova) cu lucrarea „Importanța testării microbiologice a hemoculturilor. Infecțiile invazive cu bacili gramnegativi rezistenți la antimicrobiene”.
--	---

	5. Participare la Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și Sănătate: Calitate, excelență și performanță”, desfășurată la 18-20 octombrie 2023, Chișinău (Republica Moldova), cu lucrarea „Analiza rezistenței patogenilor gram-negativi non-fermentativi de importanță clinică”. 6. Participare la Conferința națională cu participare internațională „Abordarea O Singură Sănătate – realizări și provocări”, desfășurată la 23-24 noiembrie 2023, cu lucrarea „Sistemul de Supraveghere Epidemiologică a rezistenței microorganismelor la antimicrobiene în Republica Moldova” (15 credite EMC) 7. Participare la Conferința națională cu participare internațională „Abordarea O Singură Sănătate – realizări și provocări”, desfășurată la 23-24 noiembrie 2023, cu posterul „Analysis of antimicrobial resistance in clinical strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i>”. 8. Participare la „Nopatea tinerilor cercetători” cu tema: Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene – Broșură pentru copii, jocuri interactive, poster.
Ghiduri	Lucrări științifico-metodice și didactice 1. Burduniuc O.; Bălan G.; Holban T.; Plăcintă G.; Sofronie O.; Țapu L., Anton M. Ghid Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene, interpretarea și aplicarea clinică a rezultatelor. Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții din RM, Chișinău 2024. Disponibil: https://ms.gov.md/legislatie/ghiduri-protocoale-standarde/ghiduri-clinice-nationale/ 2. Burduniuc O.; Bălan G.; Holban T.; Plăcintă G.; Sofronie O.; Anton M.; Țapu L. Ghid Detectarea mecanismelor de rezistență la antimicrobiene. Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții din RM, Chișinău 2023. 3. Burduniuc O., Bălan G., Sofronie O., Bucov V., Holban T., Bivol M. Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor. Tipografia Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”. Chișinău, 2020. ISBN 978-9975-151-43-6. Disponibil: https://ms.gov.md/legislatie/ghiduri-protocoale-standarde/ghiduri-clinice-nationale/ 4. Burduniuc O.; Ceban E.; Bălan G.; Plăcintă G.; Vișnevschi A.; Sofronie O.; Bivol M. Ghidul: Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar. Chișinău: Tipografia Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”. 2021, 64p. ISBN 978-9975-3415-9-2. Disponibil: https://msmps.gov.md/wp-content/uploads/2021/08/GHIDUL1.pdf

	5. Burduniuc O.; Caterinciuc N.; Halacu A.; Busuioc E.; Bălan G.; Plăcintă G.; Teaciuc E.; Sofronie O.; Bivol M. Ghidul Managementul infecției cu Clostridioides difficile. Chișinău: Tipografia Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”. 2021, 66p. ISBN 978-9975-157-29-2. Disponibil: https://msmps.gov.md/wp-content/uploads/2021/06/Ghid_Management_infectia_Clostridiodes_.pdf 6. Burduniuc O., Bălan G., Spînu C., Sofronie O., Bivol M. Ghid Diagnosticul Microbiologic al Infecțiilor Tractului Respirator: Tipografia Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”. Chișinău, 2021, 80 p. ISBN 978-9975-157-11-7 Disponibil: https://ms.gov.md/legislatie/ghiduri-protocoale-standarde/ghiduri-clinice-nationale/ 7. Anton M., Perjeru M., Lozneanu I., Țapu L., Croitoru C., Bălan G., Burduniuc O. Metodă de creștere a gradului de conștientizare la copii cu privire la prevenirea rezistenței la antimicrobiene. Chișinău 2022, Broșură.
Proiecte naționale 2020-2023 2020-2023	Participări în proiecte naționale Studierea rezistenței bacililor gram-negativi la antimicrobiene în vederea fortificării sistemului național de supraveghere și control al bolilor transmisibile. Impactul imunizării asupra morbidității și mortalității copiilor prin boli respiratorii în Republica Moldova.
MEBRU	
Perioada	2017 - prezent
	Membru activ al Asociației Obștești „Asociația de Biosiguranță și Biosecuritate din Republica Moldova” (ABBRM).
	2019 - prezent
	Membru al Asociației Europene de Biosiguranță și Biosecuritate (European Biosafety Association - EBSA)
	Membru al Federației internaționale a Asociațiilor de Biosecuritate (International federation of biosafety associations - IFBA)

Avizul Comitetului de Etică a Cercetării

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
AL REPUBLICII MOLDOVA



MINISTRY OF HEALTH
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

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

NICOLAE TESTEMIȚANU STATE UNIVERSITY
OF MEDICINE AND PHARMACY
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MD-2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, tel.: (+373) 22 205 701, fax: (+373) 22 242 344, contact@usmf.md, https://usmf.md

27.09.2022 nr. 1
la nr. 9 din 10.01.2022

Aviz favorabil al Comitetului de Etică a Cercetării

La proiectul științific de doctorat cu titlul: „Rezistența la beta-lactamine a bacililor gram-negativi izolați din biosubstrate clinice”, solicitantă: **Anton Maria**; conducător științific: BURDUNIUC Olga, dr. șt. med., conf. cercet., șefă direcție, Direcția diagnostic de laborator în sănătate publică, Agenția Națională pentru Sănătate Publică

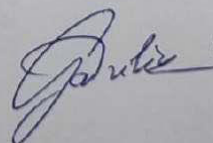
Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu”, examinând la ședința din 20 septembrie 2022 următoarele documente:

1. Formularul de solicitare pentru evaluare etică a cercetării;
2. Extrasul din procesul verbal al subdiviziunii;
3. Protocolul cercetării;
4. Adnotarea temei;
5. Formularul de informare a participantului la studiu;
6. Formularul de acceptare (acordul informat al participantului la studiu);
7. Angajamentul de confidențialitate;
8. CV-ul solicitantului;
9. CV-ul conducătorului științific,

a decis că proiectul de cercetare „Rezistența la beta-lactamine a bacililor gram-negativi izolați din biosubstrate clinice” corespunde exigențelor etice.

Lista nominală a membrilor Comitetului de Etică a Cercetării prezenți în ședință: Gavriliuc Mihail, Paladi Adriana, Caproș Nicolae, Tcaciuc Eugen, Dumbrăveanu Ion, Casian Dumitru, Raba Tatiana, Ojovan Vitalie, Foca Ecaterina, Guțu Luminița, Gramma Rodica, Mostovei Andrei, Sagaidac Irina.

Președintele
Comitetului de Etică a Cercetării
dr. hab. șt. med., prof. univ.

 Gavriliuc Mihail

IMPORTANT! Vă atenționăm că, în caz de inițiere a unor modificări în design-ul cercetării, în special în metodologie și în procedura recrutării, selectării, informării și siguranței participanților la cercetare, prezentul Aviz nu este valabil, iar cercetătorul urmează să aplice proiectul de cercetare modificat pentru evaluare repetată din partea Comitetului de Etică a Cercetării, înainte de a aplica în practică modificările respective.