

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris  
CZU: [615.282.015.8:616.992.282+582.282.23] (043.2)

**BURDUNIUC Olga**

**PRODUSE INOVAȚIONALE CU ACȚIUNE ANTIFUNGICĂ  
ASUPRA UNOR AGENȚI CAUZALI AI MICOZELOR UMANE**

**313.02 - MICROBIOLOGIE, VIRUSOLOGIE MEDICALĂ**

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

**CHIȘINĂU, 2023**

Teza a fost elaborată în cadrul Departamentului Medicină Preventivă, Disciplina de microbiologie și imunologie, Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

**Consultanți științifici:**

**Rudic Valeriu**, dr. hab. șt. biol., prof. univ., academician, Om Emerit

**Gulea Aurelian**, dr. hab. șt. chim., prof. univ., academician, Om Emerit

**Referenți oficiali:**

**Bosevska Golubinka** dr. șt. med., prof. univ. (Stip, Republica N. Macedonia)

**Pîntea Victor** dr. hab. șt. med., profesor universitar

**Ghinda Serghei** dr. hab. șt. med, profesor cercetător

**Consiliul Științific Specializat a fost aprobat de către Consiliul de Conducere al ANACEC prin decizia nr. 1 din 7 iulie 2023, în următoarea componență:**

**Tagadiuc Olga** *președinte*, dr. hab. șt. med., prof. univ.

**Paraschiv Angela** *secretar*, dr. hab. șt. med., conf. univ.

**Mușet Gheorghe** membru, dr. hab. șt. med., prof. univ.

**Diug Eugen** membru, dr. hab. șt. farm., prof. univ.

**Roșcin Iurie** membru, dr. hab. șt. med., prof. univ.

**Vișnevschi Anatol** membru, dr. hab. șt. med., prof. univ.

**Gudumac Valentin** membru, dr. hab. șt. med., prof. univ.

**Spînu Constantin** membru, dr. hab. șt. med., prof. univ., Om Emerit

**Arjana Tambic Andrasevic** membru, dr. șt. med., prof. univ., (Zagreb, Croația)

Susținerea va avea loc la 11 septembrie 2023, ora 14.00, în ședința Consiliului științific specializat DH 313.02-23-3 din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt nr.165, biroul 205, Chișinău, MD-2004).

Teza de doctor habilitat și rezumatul pot fi consultate la biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova și pe pagina web a ANACEC ([www.anacec.md](http://www.anacec.md)).

Rezumatul a fost expediat la 8 august 2023.

Secretar științific al Comisiei de susținere publică:

**Paraschiv Angela, dr. hab. șt. med., conf. univ.**

Consultanți științifici:

**Rudic Valeriu**, dr. hab. șt. biol., prof. univ., acad., Om Emerit

**Gulea Aurelian**, dr. hab. șt. chim., prof. univ., acad., Om Emerit

Autor

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

© Burduniuc Olga, 2023

## CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR.....	4
REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII .....	5
1. SINTEZA DATELOR ȘI EVOLUȚIA CERCETĂRIILOR PRIVIND ETIOLOGIA, CLASIFICAREA, DIAGNOSTICUL ȘI STRATEGIILE TERAPEUTICE ÎN INFECȚIILE FUNGICE .....	11
2. MATERIALE ȘI METODE APLICATE ÎN CERCETARE .....	11
3. DISTRIBUȚIA LEVURILOR DIN GENUL CANDIDA ÎN FUNCȚIE DE BIOSUBSTRATURI, PONDERA FACTORILOR DE PATOGENITATE ȘI REZISTENȚA LA ANTIFUNGICE .....	14
3.1. Prevalența și spectrul speciilor de <i>Candida</i> implicate în micozele umane.....	14
3.2. Evaluarea susceptibilității la antifungice a levurilor din genul <i>Candida</i> .....	15
3.3 Cercetarea exprimării factorilor de patogenitate a tulpinilor de <i>Candida</i> spp. izolate din biosubstraturi clinice.....	16
4. ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A UNOR COMPUȘI NOI DE ORIGINE CHIMICĂ ȘI BIOLOGICĂ DE INTERES FARMACEUTIC .....	18
4.1. Activitatea antifungică a compușilor noi asupra tulpinilor tip de fungi .....	19
4.2 Evaluarea acțiunii antifungice a compușilor chimici și biologici testați față de tulpinile izolate din biosubstraturi umane .....	20
4.3. Acțiunea sinergică a compușilor chimici și biologici testați asupra tulpinilor tip de fungi levuriformi .....	21
4.4. Evaluarea toxicității acute a compușilor chimici testați cu ajutorul testului de imobilizare a crustaceului <i>Daphnia magna</i> .....	22
4.5. Influența compușilor chimici și biologici testați, și a combinațiilor lor asupra factorilor de patogenitate ai <i>Candida albicans</i> și ai <i>Candida tropicalis</i> .....	22
5. NANOPARTICULE DE AG STABILIZATE CU DIVERȘI DERIVAȚI NATURALI ȘI PROPRIETĂȚILE LOR ANTIFUNGICE .....	26
5.1. Caracterizarea noilor nanosisteme antifungice bazate pe nanoparticule de argint generate din pululan, 6-carboxi pululan și derivați celulozici .....	26
5.2. Screening-ul calitativ al sensibilității tulpinilor tip și clinice de fungi față de potențiala acțiune antifungică a nanoparticulelor de argint generate din polizaharide.....	28
5.3. Evaluarea proprietăților antifungice ale nanoparticulelor de Ag generate din pululan, din 6-carboxipululan comparativ cu cele pe bază de derivați celulozici.....	28
6. MODIFICAREA MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV, SISTEMULUI ANTIOXIDANT, PATTERNULUI INFLAMATOR SUB INFLUENȚA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI.....	30
6.1. Activitatea compușilor biologic activi asupra parametrilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant .....	28
6.2. Modificarea nivelului parametrilor citokinelor proinflamatoare și antiinflamatoare .....	29
6.3. Analiza comparativă a parametrilor din loturile cercetate.....	30
6.4. Analiza corelațională în cadrul loturilor cercetate.....	32
CONCLUZII GENERALE.....	35
RECOMANDĂRI.....	37
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	38
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI .....	38
ADNOTARE .....	47
АННОТАЦИЯ .....	48
SUMMARY .....	49
FOAIA PRIVIND DATELE DE TIPAR .....	50

## LISTA ABREVIERILOR

<b>Ag</b>	Argint
<b>AgNPs</b>	Nanoparticule de argint
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>CA</b>	Acetat de celuloză
<b>CE50</b>	Concentrație mediană efectivă
<b>CFUs</b>	Coloniile formatoare de unități
<b>CMF</b>	Concentrația minimă fungicidă
<b>CMI</b>	Concentrația minimă inhibitoare
<b>DAM</b>	Dialdehida malonică
<b>DN-aze</b>	Deoxiribonucleazei extracelulare
<b>DS</b>	Deviere standard
<b>EC</b>	Etilceluloză
<b>EDAX</b>	Microscopia electronică de baleiaj cu sistem de analiză elementală
<b>ELISA</b>	<i>eng.</i> Enzyme-linked immunosorbent assay/analiza imunoenzimatică
<b>EUCAST</b>	<i>eng.</i> European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>FT-IR</b>	Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier
<b>GPO</b>	Glutation peroxidaza
<b>GR</b>	Glutation reductaza
<b>G-S-T</b>	Glutation S-transferaza
<b>HPC</b>	Hidroxipropilceluloză
<b>IÎ</b>	Interval de încredere
<b>IL-1 <math>\beta</math></b>	Interleukina-1 $\beta$
<b>IL-10</b>	Interleukina-10
<b>IL-6</b>	Interleukina-6
<b>LC50</b>	Concentrație medie letală
<b>MC</b>	Metilceluloză
<b>NaBr</b>	Bromura de sodiu
<b>NaOBr</b>	Hipobromitul de sodiu
<b>NaOCl</b>	Hipocloritul de sodiu
<b>OECD</b>	Metodologia europeană standardizată
<b>OMS</b>	Organizația Mondială a Sănătății
<b>PPOA</b>	Prođuși proteici de oxidare avansată
<b>R</b>	Rezistent
<b>RMN</b>	Rezonanță magnetică nucleară
<b>S</b>	Sensibil
<b>SDD</b>	Sensibil la doze înalte
<b>SEM</b>	Microscopia electronică de scanare
<b>SOD</b>	Superoxid dismutaza
<b>TEMPO</b>	2,2,6,6-tetrametilpiperidină- <i>N</i> -oxil
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	Factorul de necroză tumorală alfa

## **REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII**

### ***Actualitatea temei și importanța problemei abordate***

Fungii devin din ce în ce mai frecvent implicați în micoze umane și mai rezistenți la tratamente în timp ce există doar patru clase de antifungice disponibile și doar câteva preparate în curs de dezvoltare. În 2022, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în premieră a publicat lista de agenți fungici patogeni prioritari (eng.: WHO fungal priority pathogens list - WHO FPPL) ce include 19 specii, care reprezintă amenințare majoră pentru sănătatea publică. Conform acestei liste și în funcție de impactul lor asupra sănătății publice, riscul evoluției rezistenței la preparatele antifungice și existența metodelor de diagnostic în timp util, agenții fungici se împart în trei categorii: critici, cu prioritate mare și medie. Dintre agenții fungici prioritari, patru au fost clasati pe primul loc ca fiind „critici” și anume: *A. fumigatus*, *C. albicans*, *C. neoformans*, *C. auris* [5, 11, 12].

Fungii patogeni cauzează peste un miliard de infecții umane, fiind responsabili de mai mult de 1,6 milioane de decese anual, iar povara globală a acestor boli este enormă. Aceste date sunt alarmante, având în vedere insuficiența dovezilor științifice publicate ce țin de biologia agenților patogeni fungici și de impactul infecțiilor fungice invazive asupra sănătății publice [7, 14].

Provocările actuale ce țin de strategiile farmaceutice convenționale rezultă din conexiunea dintre limitările legate de tratamentul și statutul clinic al pacientului, și includ: nespecificitatea, neselectivitatea medicamentului utilizat, administrarea necorespunzătoare a tratamentului și apariția efectelor farmacologice secundare [6, 12, 13].

### ***Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare***

OMS declară că în pofida îngrijorării la nivel global față de tendința de creștere a prevalenței infecțiilor fungice, acestea sunt subestimate. Din cauza atenției și resurselor minime acordate, se atestă insuficiența dovezilor privind distribuția fungilor patogeni și a profilurilor de rezistență la antifungice. Ca urmare, povara reală a acestor infecții și a rezistenței antifungice este necunoscută, iar măsurile de prevenire și de control sunt insuficient dezvoltate. Astfel, reflectând asupra celor mai recente studii științifice se poate afirma că regnul fungilor este mai puțin studiat și comunitatea științifică a neglijat fungii patogeni, spre deosebire de bacterii și de virusuri. Conform informațiilor din literatura de specialitate, până în prezent au fost descrise 150 mii specii de fungi, dar se estimează existența încă a câtorva milioane care urmează să fie identificate și descrise [5, 10].

Unul din motivele subestimării agenților patogeni fungici rezidă în natura lor oportunistă și în recunoașterea lor ca agenți patogeni doar în ultimele decenii, în urma schimbărilor în epidemiologia și în patogenia maladiilor infecțioase. Aceste modificări includ creșterea dramatică a numărului de pacienți imunocompromiși ca urmare a mutațiilor ce afectează funcția imună a gazdei (de exemplu, chimioterapia cancerului sau efectul terapiei imunosupresoare care împiedică rejețul alogrefei) sau dezvoltarea bolilor care compromit funcția sistemului imun (de exemplu, HIV/SIDA, infecția tuberculoasă). Unele studii prezintă dovezi ale implicării agenților fungici în dezvoltarea infecțiilor secundare la persoane cu formă severă de COVID-19 [12].

Cercetările în domeniu au demonstrat că diversitatea mecanismelor moleculare contribuie la evoluția patogenității fungice, iar diferențele genetice specifice permit distingerea agenților patogeni de cei nepatogeni [4, 10, 11].

Studiile relevante referitor la patogenitatea fungică au demonstrat că interacțiunea dintre agenții patogeni, gazdele umane și mediu este un proces complex și multifactorial. Diferențele dintre elementele genetice asociate cu trăsăturile ecologice relevante sunt considerate esențiale în dezvoltarea acestor infecții. În ultima perioadă, tot mai mulți cercetători își orientează eforturile asupra studierii caracteristicilor factorilor de patogenitate ai fungilor și implicării acestora în apariția infecțiilor fungice umane [15, 16].

Specialiștii din practica medicală sunt alarmați de eșecurile terapeutice în cazul infecțiilor fungice invazive cauzate de agenți rezistenți, în special de comunitățile microbiene organizate în biofilme [8, 9].

Intersul modest al științei naționale pentru infecțiile fungice, comparativ cu cercetările la nivel global, dorința evaluării speciilor implicate, a rezistenței la antifungice, a activității antimicrobiene și a unor noi formule farmaceutice pe bază de substanțe naturale, combinate cu cele de origine sintetică, au impulsivat această cercetare [2, 3, 17].

**Scopul cercetării:** evaluarea activității antifungice a unor noi compuși în vederea argumentării principiilor de elaborare a medicamentelor policomponente eficiente în terapia infecțiilor fungice.

#### **Obiectivele cercetării:**

1. Stabilirea diversității speciilor și a sensibilității la antifungice a micetelor levuriforme izolate din biosubstraturi;
2. Evidențierea fenotipică a expresiei factorilor de patogenitate ai tulpinilor clinice de *Candida* spp;
3. Cercetarea potențialului antifungic al noilor compuși chimici, biologici, a nanoparticulelor de Ag generate din derivați celulozici asupra tulpinilor de referință și clinice;
4. Analiza activității sinergice și caracterizarea efectelor antifungice ale compușilor monocomponenți și policomponenți;
5. Evaluarea acțiunii compușilor testați față de exprimarea factorilor de patogenitate ai *Candida* spp;
6. Studiarea influenței compușilor biologic activi asupra unor parametri biochimici și a pattern-ului inflamator (imunochimici).

**Ipoteza de cercetare.** În prezenta lucrare ipoteza de cercetare a fundamentat direcția cercetării și a permis determinarea esenței fenomenelor studiate, elucidarea relațiilor cauză-efect, confirmate ulterior experimental.

În baza analizei comprehensive a literaturii de specialitate și a evaluării obiectivelor de cercetare, au fost formulate ipoteze de lucru:

*Ipoteza 1.* Necesitatea stringentă în proiectarea de structuri moleculare cu proprietăți antifungice, care ar putea servi ca compuși biologic activi pentru obținerea unor noi medicamente policomponente, eficiente în tratamentul infecțiilor fungice. Pentru realizarea acestui deziderat o atenție deosebită trebuie acordată sintezei de noi compuși chimici și biologic activi cu evaluarea activității lor antifungice, în scopul extinderii arsenalului de preparate antifungice.

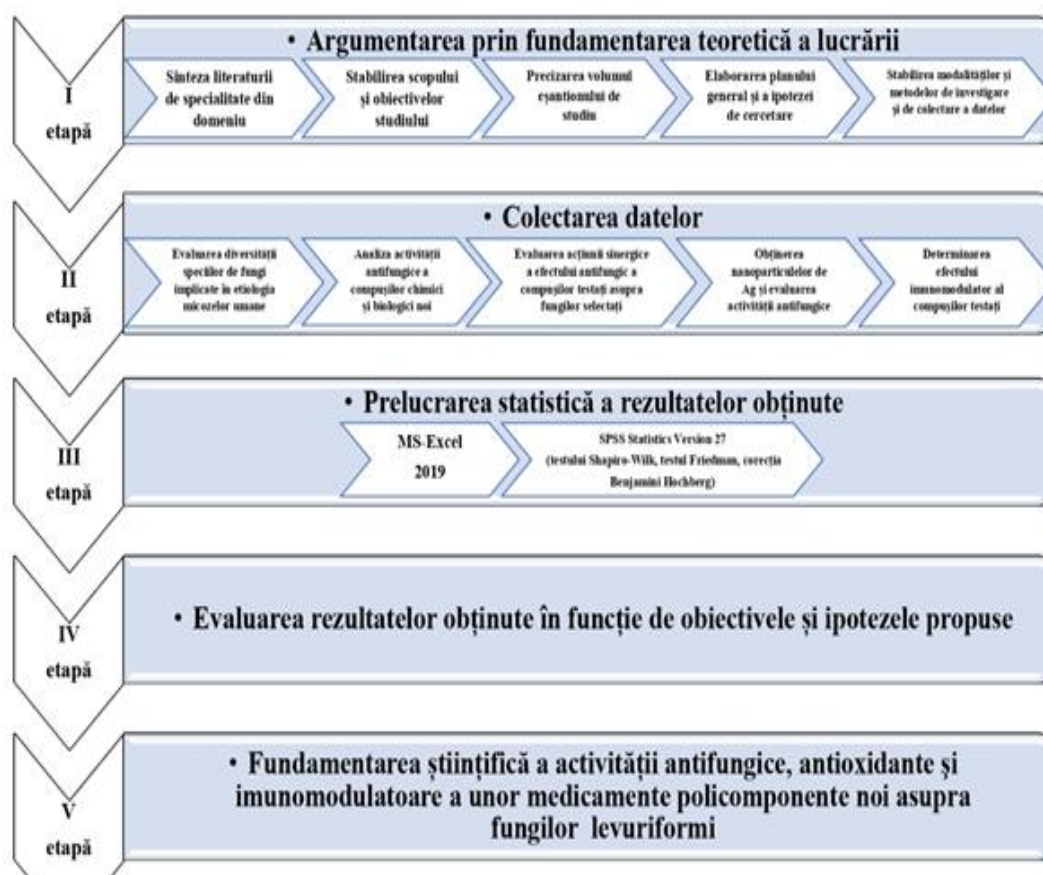
*Ipoteza 2.* Mecanismele implicate în dezvoltarea patogenității fungilor constituie un domeniu de interes științific în dezvoltarea de soluții terapeutice antifungice. Agenții fungici dispun de factori de patogenitate responsabili de patogenitatea infecțiilor fungice, de

consecințele nefavorabile și de deficiențele în tratamentul acestora. Astfel, majoritatea antifungicelor disponibile la moment nu sunt axate pe inhibiția factorilor de patogenitate, cum ar fi formarea biofilmelor, enzimelor extracelulare ș.a. Pentru depășirea acestor neajunsuri sunt necesare studii privind dezvoltarea de noi medicamente și de strategii în direcția diminuării factorilor de patogenitate ai agenților fungici.

*Ipoteza 3.* În prezent accentul se pune pe elaborarea de antifungice noi, pe bază de nanoparticule de argint (AgNP) și de materie primă locală cu acțiune antifungică, prin metode ecologice, cost-eficiente. Biosinteza AgNP, caracterizarea, testarea potențialului antifungic reprezintă o direcție de perspectivă ce merită concentrarea eforturilor cercetătorilor. Astfel, dezvoltarea de platforme nanostructurate și evaluarea activității asupra agenților fungici poate sta la baza obținerii unor noi medicamente eficiente în terapia infecțiilor fungice.

### **Metodologia cercetării științifice**

Proiectarea cercetării a fost efectuată în baza direcțiilor trasate de obiectivele prevăzute pentru realizarea scopului prestabilit. În vederea cercetării produselor inovatoare cu acțiune antifungică asupra unor agenți cauzali ai micozelor umane s-a planificat un studiu analitic, care prevede câteva etape, ce diferă prin metodologia aplicată și profunzimea investigațiilor, fiecare, în funcție de obiectiv, a determinat raționamentul de studiu prevăzut spre realizare. Astfel, au fost obținute dovezi, ce au stat la baza atingerii scopului cercetării realizate pe etape, conform designului redat în Figura 1.



**Fig.1. Design-ul cercetării**

**Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute.** Pentru prima dată a fost identificată și fundamentată științific activitatea antifungică, antioxidantă și

imunomodulatoare a unor noi substanțe biologice active asupra micetelor levuriforme cu evidențierea proprietăților de inhibiție a expresiei factorilor de patogenitate și cu brevetarea în calitate de produse inovaționale cu acțiune antifungică.

**Problema științifică soluționată în teză** constă în evaluarea acțiunii antifungice a unor noi compuși chimici, biologici, a nanoparticulelor de Ag generate din derivați celulozici, ce servește ca punct de plecare pentru crearea direcției științifice aplicative și principiilor de sinteză a nanocompozitelor naturale și produselor inovaționale combinate cu potențial de acțiune antifungică la costuri reduse.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării.** Studiu realizat vine în consens cu agendele de cercetare strategică a inițiativelor internaționale în domeniu, cu politicile în domeniul sănătății publice, cu obiectivele strategice ale Planului Global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene, oferind dovezi fiabile pentru dezvoltarea de alternative antifungice combinate cu valorificarea acestora, în vederea obținerii unor noi forme farmaceutice pentru terapia infecțiilor fungice și crearea unui sistem de supraveghere a rezistenței la antifungice în Republica Moldova.

#### **Principalele rezultate științifice înaintate spre susținere:**

1. Speciile de fungi levuriformi prioritar implicați în etiologia infecțiilor fungice;
2. Profiluri de rezistență la antifungice a tulpinilor clinice de fungi levuriformi;
3. Principalii factori de patogenitate responsabili de invazia fungilor și de dezvoltarea procesului infecțios;
4. Date privind activitatea antifungică a unor compuși chimici și extracte biologice asupra tulpinilor de referință și a izolatelor clinice;
5. Dovezi ale efectelor sinergice generate între compușii biologici active, care determină potențierea proprietății de inhibare a dezvoltării celulelor fungice;
6. Rezultate ale acțiunii compușilor monocomponenți și policomponenți asupra timpului de omorâre a fungilor levuriformi;
7. Evidențe științifice cu referire la activitatea compușilor testați separat și în combinație asupra expresiei factorilor de patogenitate ai fungilor;
8. Dovezi ale efectului fungistatic și fungicid al nanoparticulelor de argint generate din pululan, 6-carboxipululan și derivați celulozici;
9. Informații relevante cu referire la activitatea compușilor biologici activi asupra intensității reacțiilor de oxidare cu radicali liberi prin aprecierea unor indici ai stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant;
10. Dovezi fundamentate științific ale acțiunii compușilor biologici activi asupra pattern-ului inflamator pentru trasarea direcțiilor de elaborare a preparatelor antifungice eficiente.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele privind expresia factorilor enzimatici ai levurilor, ghidurile practice privind diagnosticul fungilor în biosubstraturi au fost implementate în activitatea laboratoarelor microbiologice din cadrul rețelei naționale publice și private, în procesul didactic de pregătire a cadrelor medicale în cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, în Centrul de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”.

#### **Aprobarea rezultatelor științifice**

Datele obținute pe perioada realizării tematicii tezei au fost diseminate în articole științifice – articole de tip review publicate în reviste de specialitate recunoscute internațional, în monografii ș.a. Aceste lucrări științifice, elaborate în cadrul prezentei



cercetări, au adus contribuții atât la dezvoltarea personală, cât și la progresul științific al domeniului de cercetare vizat prin participarea și prezentarea lor la congrese, conferințe de specialitate și la alte foruri științifice naționale și internaționale: International Conference titled „Socio-psycho-medical changes in the lifestyles of the contemporary family” (Bucharest, România, 2015); Ежегодная Международная Научно-Практическая Конференция „Актуальные вопросы медицины” (Баку, Азербайджан, 2018); International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4<sup>th</sup> edition). Academy of Sciences of Moldova, Institute of Microbiology and Biotechnology. (Chișinău, Republica Moldova, 2018); Congresului Național al specialiștilor din domeniul sănătății publice și managementului sanitar din Republica Moldova cu participare Internațională „O singură sănătate” (Chișinău, Republica Moldova, 2019); Conferința Științifică Internațională, Sănătatea, medicina și bioetica în societatea contemporană: studii inter- și pluridisciplinare Health, Medicine and Bioethics in Contemporary Society: Inter-and Pluridisciplinary Studies: mater. conf. șt. internaț., ediția a 2-a (Chișinău, Republica Moldova, 2019); Congresul consacrat aniversării a 75-a de la formarea USMF „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, Republica Moldova, 2020); Conferință științifică națională cu participare internațională „Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică” (Chișinău, Republica Moldova, 2021); The 1<sup>st</sup> edition of the National Conference with International participation „One Health Approach in a Changing World” (Chișinău, Republica Moldova, 2021); Conferința Internațională „Pandemia COVID-19 – atitudini, contraverse și provocări în asistența perinatală” (Chișinău, Republica Moldova, 2021); Conferința Națională cu participare Internațională „Stopați pneumonia: investiții în sănătatea copiilor” dedicată Zilei Mondiale a Pneumoniei celebrată în 12 noiembrie (Chișinău, Republica Moldova, 2022); Conferința științifică Națională cu Participare Internațională Optimizarea supravegherii epidemiologice în infecțiile nosocomiale (Chișinău, Republica Moldova, 2017); 20th Congress of the International Society for Human, Animal Mycology (Amsterdam, Netherlands, 2018); First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology „Balkan Fungus 2018 (Timișoara, România, 2018); A XXXV-a Conferință națională de chimie Călimănești, Căciulata (Vâlcea, România, 2018); International Conference Achievements and Perspectives of Modern Chemistry dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry (Chișinău, Republica Moldova, 2019); Congresul consacrat aniversării a 75-a de la formarea USMF „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, Republica Moldova, 2020); 2nd Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology „Balkan Fungus” (Thessaloniki, Greece, 2022).

De asemenea, rezultatele au fost prezentate la următoarele saloane de invenție, lucrările fiind menționate cu distincții: The World Exhibition on Inventions, Research and New Technologies, Eureka (Valencia, Spania, 2018 - medalie de aur); 46E Salon International des Inventions de Genève (Geneva, 2018 - medalie de aur); Euroinvent 2018 (Iasi, Romania, 2018 - medalie de aur și diplomă de excelență); Inventica 2018 (Iasi, România, 2018 - medalie de aur); Salonul Internațional de Invenții Inovații „Traian Vuia” (Timișoara, România, 2018 - medalie de aur); Inventica 2018 (Iasi, România, 2018 - medalie de aur); PRO INVENT Ediția XVII (Cluj-Napoca, România, 2019 - diplomă de excelență); 47<sup>E</sup> Salon International des Inventions de Genève (Geneva, 2019 - medalie de argint); Salonul Internațional al Inovării și Cercetării Științifice Studentești ”Cadet INOVA’19”. Academia Forțelor Terestre „Nicolae Bălcescu” (Sibiu, România, 2019 - diploma de onoare

a Salonului); Salonul Internațional de Invenții Inovații „Traian Vuia” (Timișoara, România, 2019 - medalie de aur); Inventica 2019 (Iași, România, 2019 - medalie de aur); Infoinvent Ediția a XVI-a (Chișinău, Republica Moldova, 2019 - medalie de argint); Inventica 2020 (Iași, România, 2020 - Diplomă de Performanță); The 24th International Exhibition of Inventions Inventica 2020 (Iași, România, 2020 - Medalie de aur, Diplomă de Performanță); Salonul Internațional de Invenții și Inovații „Traian Vuia”, ediția a VI-a (Timișoara, România, 2020 - Medalie de aur); Euroinvent 2021 (Iasi, Romania, 2021 - Medalie de aur); Innovation and Creative Education Fair for Youth ICE-USV – Vth Edition (Suceava, România, 2021 - Medalie de argint); Inventica 2021 (Iași, România, 2021 - Medalie de argint); Salonul Internațional de Invenții și Inovații „Traian VUIA`21” (Timișoara, România, 2021 - Medalie de aur); PRO INVENT Ediția a XIX-a (Cluj-Napoca, România, 2021 - Medalie de aur); International Exhibition INVENTCOR II<sup>nd</sup> edition (Deva, România, 2021 - Medalie de aur); Euroinvent 2023 (Iași, România 13 mai 2023 - Medalie de aur și diplomă Medicine Award).

### **Publicații la temă**

Rezultatele studiului au fost reflectate și publicate în 60 de lucrări științifice, dintre care o monografie în monoautorat „Fungii patogeni și rezistența la antimicotice”, două capitole în monografie colectivă, zece articole în reviste din baze de date Web of Science și SCOPUS, cinci articole în diferite reviste științifice din străinătate recunoscute, 15 articole în revistele științifice din Registrul Național al revistelor de profil, în materialele congreselor, conferințelor științifice, dintre care patru publicații de monoautorat, nouă rezumate în culegeri de lucrări în cadrul conferințelor internaționale, zece rezumate rezumate la conferințe internaționale din republică, șase rezumate la conferințe naționale, șase ghiduri, două lucrări metodico-didactice, zece brevete de invenție, trei inovații. Materialele obținute în urma realizării tezei au fost prezentate la 17 foruri științifice internaționale, patru naționale cu participare internațională și la nouă naționale.

### **Sumarul compartimentelor tezei**

Lucrarea este expusă în limba română, pe 228 de pagini de text de bază, tehnoredactat la computer și include adnotări în limbile română, engleză și rusă, introducere, șase capitole, în patru dintre ele fiind analizate rezultatele cercetărilor personale, concluzii generale, recomandări practice și bibliografia cu 334 de referințe, 20 de anexe. Materialul iconografic include 38 de tabele, 80 de figuri și trei formule.

Introducerea include actualitatea și importanța subiectului abordat prin prezentarea datelor elocvente, conceptelor teoretice, argumentarea ipotezei de cercetare în conformitate cu care au fost formulate scopul și obiectivele studiului. Este expusă sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor selectate, noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute, semnificația teoretică și valoarea aplicativă, implementarea rezultatelor științifice, participările la forurile științifice unde au fost prezentate rezultatele studiului și sumarul tezei pe capitole.

Teza cuprinde șase capitole privind studiul bibliografic al subiectului abordat, materiale și metode de cercetare, dar și rezultate originale.

**Cuvinte cheie:** fungi, factori de patogenitate, antifungice, nanoparticule de Ag.

## CONȚINUTUL TEZEI

### 1. SINTEZA DATELOR ȘI EVOLUȚIA CERCETĂRILOR PRIVIND ETIOLOGIA, CLASIFICAREA, DIAGNOSTICUL ȘI STRATEGIILE TERAPEUTICE ÎN INFECȚIILE FUNGICE

Cuprinde informații obținute în baza unei documentări comprehensive, care a inclus studii recente din sursele bibliografice naționale și internaționale despre agenții fungici, proritari implicați în dezvoltarea infecțiilor fungice; sunt elucidate principiile de clasificare a fungilor; etiologia, principiile de clasificare și metodologiile de diagnostic al infecțiilor fungice; mecanismele de acțiune ale preparatelor antifungice; conceptele fundamentale ale mecanismelor de rezistență la preparatele antifungice și posibilitățile de elaborare a unor noi molecule active asupra agenților fungici. În urma analizei și evaluării informațiilor la tema de cercetare din literatura de specialitate trecută în revistă, cu descrierea și interpretarea datelor, a fost documentat conceptul științific care a servit ca suport teoretico-metodologic al cercetării. La finele capitolului sunt expuse concluziile, care reflectă povara globală a infecțiilor fungice și provocările cu care se confruntă medicina în domeniul de interes al prezentei lucrări.

### 2. MATERIALE ȘI METODE APLICATE ÎN CERCETARE

Cercetarea a fost realizată în perioada 2014-2021, în cadrul Disciplinei de microbiologie și imunologie, în Laboratorul microbiologic al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică, în Laboratorul de biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în Laboratorul de Chimioterapie Antimicrobiană, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” și în Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași.

Metodologia cercetării a fost aprobată de către Comitetul de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu”, avizul nr. 67 din 12 mai 2017.

Cercetarea a fost realizată sub îndrumarea și ghidarea consultantților științifici: Rudic Valeriu, dr. hab. șt. biol., prof. univ., acad., Om Emerit al Republicii Moldova (specialitatea 313.02 Microbiologie, virusologie medicală) și Gulea Aurelian, dr. hab. șt. chim., prof. univ., acad, Om Emerit al Republicii Moldova (specialitatea 141.01. Chimie anorganică; 141.02. Chimie coordinativă).

Obiecte de studiu în cercetare au servit tulpinile de referință care provin din colecții internaționale *American Type Culture Collection (ATCC)*: *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 14053, *Candida lusitaniae* ATCC 34449, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Cryptococcus neoformans* ATCC 13690, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4098, *Meyerozyma guilliermondii* ATCC 626 și tulpinile de fungi izolate din hemoculturi, de la pacienții cu infecții invazive, ce aparțin la 19 specii, 5 genuri: *Candida* cu 15 specii reprezentat de 94 tulpini, genurile *Cryptococcus*, *Magnusiomyces* și *Trichosporon* reprezentat de o singură specie a câte un izolate fiecare câte și genul *Saccharomyces* reprezentat de 1 specie cu 3 izolate. Majoritatea izolatelor din hemoculturi au fost oferite pentru testare de Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad”. În studiu au fost incluse și izolate clinice din: urină, secreții vaginale, aspirat bronșic, secreții otice, tub endo-traheal, secreții oftalmice ș.a. colectate în cadrul sistemului de supraveghere a rezistenței la antimicrobiene.

În calitate de compuși chimici cu potențiale efecte antifungice au fost testați compușii coordinative ai tiosemicarbazonelor sintetizați în Laboratorul de cercetări științifice „Materiale Avansate în Biofarmaceutică și Tehnică” al Universității de Stat din Moldova, de către un grup de autori ghidat de academicianul Aurelian Gulea. În calitate de precursori de sinteză ai compușilor chimici au fost utilizați reactivi de puritate înaltă „Sigma-Aldrich”. În total au fost testați 980 de compuși coordinativi ai clorurilor, bromurilor, nitraților, percloraților, sulfaților și acetaților de cupru, fier, cobalt, nichel și zinc cu N(4)-ciclohexil, hexil-, *terț*-butil-, etoxicarbonil-fenil, alil-metoxifeniltiosemicarbazone și S-alchilizotiosemicarbazone 2-formilpirininelor și aldehydelor salicilice substituie, acidului piruvic, aminoguanazona pirazolonei și complexii cu liganzi micști, care conțin amine aromatice, azometine (Anexa 1). Într-un final, au fost selectați 22 de compuși, care au prezentat activitate antifungică în concentrații mai mici asupra tulpinilor tip.

Pentru determinarea toxicității compușilor chimici s-a efectuat testul de imobilizare a crustaceului *Daphnia magna* conform metodologiei europene standardizate (OECD).

Materialele utilizate pentru sinteza nanoparticulelelor de argint – derivații celulozici au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich Chemicals. Toate substanțele utilizate au fost de puritate analitică, neefectuându-se o purificare suplimentară. În toate sintezele s-au utilizat drept solvenți apa bidistilată și dimetilsulfoxid (DMSO, analytical grade,  $\geq 99,9\%$ ).

Compușii biologici (PCM1, PCM2, ES1, ES2, ES3) au fost oferii pentru testare de Laboratorul de Ficobiotehnologie din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei și de Laboratorul de cercetări științifice „Ficobiotehnologie” al Universității de Stat din Moldova. Inițial au fost testați 25 de compuși biologici, fiind selectați cinci care au prezentat o acțiune antifungică asupra tulpinilor de referință în concentrații mai mici.

La realizarea acestui studiu, pentru atingerea scopului și obiectivelor propuse, au fost utilizate metode standardizate, ajustate cercetării realizate (Figura 2.2.):

- ✓ *istorice, descriptive, bibliografico-analitice, logice* la studierea teoretică a bibliografiei;
- ✓ *metode de determinare a activității antifungice* a compușilor chimici, biologici și a nanoparticulelelor de argint prin metoda difuziunii în geloză, metoda diluțiilor succesive, metoda standardizată pentru levuri EUCAST EDef 7.2;
- ✓ *metode biochimice* pentru determinarea activității enzimelor (superoxid dismutaza, catalaza, activitatea antioxidantă totală, glutatión S-transferaza, glutatión peroxidaza și glutatión reductaza), capacității antioxidante totale și a conținutului produselor finale ale peroxidării lipidelor (dialdehida malonică și produșii proteici de oxidare avansată).
- ✓ *metode culturale*: izolarea agenților fungici, determinarea factorilor de patogenitate: DNA-ze, hemolizine, fosfolipaze, proteaze, esteraze, acțiunea anticomplimentară și antilozim, sensibilității la preparatele antifungice și determinarea activității antifungice a compușilor chimici și biologici asupra tulpinilor de referință și a izolatelor clinice, separat și în combinație; evidențierea posibilelor efecte împotriva formării biofilmelor ale compușilor chimici și biologici separat și în combinație;
- ✓ *analiza imunoenzimatică (abreviat ELISA, eng. enzyme-linked immunosorbent assay)*, utilizată pentru evaluarea efectelor imunomodulatorii induse de acțiunea compușilor testați prin analiza de citokine pro- și antiinflamatoare: interleukina-1B (IL-1B), factorul de necroză tumorală alfa (TNF  $\alpha$ ), interleukina-6 (IL-6) și interleukina-10 (IL-10).

- ✓ *Epidemiologice*, la evaluarea indicatorilor epidemiologici prin realizarea analizei descriptive, comparativă și analitică.
- ✓ *analiza comparativă* a activității antifungice a compușilor chimici și biologici, separat și în combinație, asupra tulpinilor de referință și clinice, determinarea efectului de sinergism;
- ✓ *statistică*: volumul cercetării și interpretarea rezultatelor studiului au fost bazate pe metode statistice tradiționale, asigurând gradul de reprezentativitate al datelor acceptate pentru studii în medicină. Baza de date a fost supusă prelucrării statistice cu ajutorul programelor existente acceptate pentru astfel de studii (MS-Excel 2019 și SPSS Statistics Version 27).

Cercetările stipulate în obiectivele cercetării, au fost desfășurate pe etape:

***Etapa I-a. Stadiul actual al cunoașterii problemei cercetate în lucrare.*** La această etapă fiecare aspect al prezentei cercetări a fost supus cunoașterii prin analiza studiilor efectuate de alți cercetători atât din țară, cât și de peste hotare. A fost realizată sinteza literaturii de specialitate din domeniul ce vizează cercetarea prin prezentarea critică a rezultatelor studiilor științifice și expunerea principalelor puncte de vedere ale lucrărilor consacrate domeniului abordat. Totodată, a fost stabilit scopul și obiectivele studiului, precizat volumul eșantionului de studiu și elaborat planul general de cercetare. A fost formulată ipoteza de cercetare, stabilite modalitățile și metodele de investigare și de colectare a datelor.

***Etapa a II-a. Evaluarea diversității speciilor de fungi implicate în etiologia micozelor umane.*** S-a inițiat acumularea materialului de cercetare, identificarea speciilor și a profilului de rezistență la antifungice, stabilirea diversității agenților fungici implicați în dezvoltarea patologiei infecțioase. A fost cercetată exprimarea factorilor de patogenitate ai izolatele clinice de fungi, analizate datele privind sensibilitatea la antifungice, stabilite pattern-uri de rezistență.

***Etapa a III-a. Analiza activității antifungice a compușilor chimici și biologici noi.*** Inițial a fost cercetată activitatea antifungică a compușilor noi asupra tulpinilor de referință și a izolatelor clinice de fungi levuriformi calitativ, prin metoda difuzimetrică, și cantitativ, prin cea a diluțiilor succesive în medii lichide. A fost determinată concentrația minimă inhibitorie și minimă fungicidă a acestor compuși. Ulterior, în conformitate cu rezultatele obținute au fost selectați compușii cu activitate antifungică în concentrații mici. De asemenea, a fost studiată și acțiunea sinergică a compușilor chimici și biologici noi, influența acestora asupra factorilor de patogenitate ai fungilor, evaluată acțiunea citotoxică a compușilor noi față de *Daphnia magna*.

***Etapa IV-a. Evaluarea acțiunii sinergice a efectului antifungic al compușilor testați asupra fungilor selectați pentru cercetare.*** Pentru început s-a evaluat acțiunea sinergică a compușilor chimici și biologici asupra tulpinilor de referință, identificând combinațiile de compuși care au potențiat efectul antifungic. Ulterior a fost determinat timpul de omorâre a fungilor sub acțiunea compușilor separat și în combinație. Au urmat experimentele privind determinarea activității compușilor noi asupra expresiei unor factori de patogenitate (fosfolipaza, proteinaza, hemolizina) și de persistență a fungilor (acțiunea anticomplementară, antilizozim). A fost determinată influența compușilor noi asupra capacității de aderență a fungilor la substratul inert și acțiunea antibiofilm a acestora.

***Etapa V-a. Obținerea nanoparticulelor de Ag și evaluarea activității antifungice.*** La această etapă au fost realizate cercetări asupra sintezei nanoparticulelor de Ag de diferite

dimensiuni și concentrații stabilizate cu diverși derivați naturali. Ulterior, s-a efectuat screening-ul calitativ al sensibilității tulpinilor fungice față de nanoparticule de Ag stabilizate cu pululan, comparativ cu cele stabilizate cu derivați celulozici. Apoi a fost testată cantitativ activitatea antifungică pentru determinarea concentrației minime inhibitorii și a concentrației minime fungicide pe tulpini tip și pe izolate clinice. În final, au fost determinate modificările viabilității și caracterele morfologice ale celulelor fungice sub acțiunea nanocompozitelor.

**Etapa VI-a. Determinarea efectului imunomodulator al compușilor testați.** Au fost efectuate cercetări de determinare a efectului imunomodulator al compușilor chimici și biologici separat și în combinație. S-a studiat influența lor asupra unor indicatori biochimici și a nivelului seric al unor citokine pro- (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) și antiinflamatoare (IL-10).

**Etapa VII-a. Evaluarea statistică a rezultatelor obținute, formularea concluziilor generale și argumentarea științifică a recomandărilor și strategiilor de intervenție.** Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic, evaluate în funcție de obiectivele, și ipotezele propuse în cadrul acestei cercetări cu formularea concluziilor generale care reflectă datele obținute și exprimă valoarea aplicativă a lucrării în recomandările expuse.

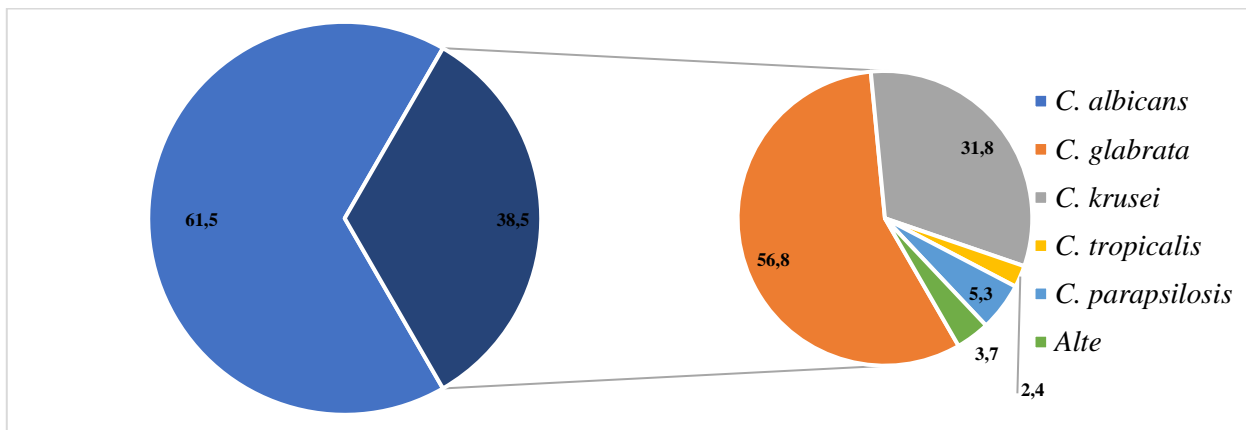
### **3. DISTRIBUȚIA LEVURILOR DIN GENUL CANDIDA ÎN FUNCȚIE DE BIOSUBSTRATURI, PONDEREA FACTORILOR DE PATOGENITATE ȘI REZISTENȚA LA ANTIFUNGICE**

În cele câteva compartimente sunt descrise rezultatele obținute la acest capitol al prezentului studiu referitor la: ponderea și diversitatea speciilor de *Candida* implicate în unele micoze umane în funcție de biosubstraturile cercetate; susceptibilitatea acestor specii de *Candida* la antifungice; exprimarea factorilor de patogenitate ai izolatelor clinice; corelarea rezistenței izolatelor clinice la antifungice cu factorii de patogenitate ai acestora. Capitolul se încheie cu concluzii ce sumarizează datele obținute în baza prezentării problematicei abordate.

#### **3.1. Prevalența și spectrul speciilor de *Candida* implicate în micozele umane**

Acest compartiment include analiza datelor ce țin de diversitatea speciilor de micete levuriforme depistate în prelevatele clinice colectate din unele instituții medicale din Republica Moldova în perioada anilor 2018-2022. Datele au fost recepționate pe suport de hârtie în baza fișei de însoțire a tulpinii izolate de către laboratoarele microbiologice din cadrul sistemului de supraveghere RAM și în conformitate cu criteriile stabilite de protocoalele internaționale.

Astfel, în studiu au fost selectate 4478 de izolate clinice, specii de micete levuriforme depistate în prelevatele clinice colectate din unele instituții medicale din Republica Moldova în perioada anilor 2018-2022. Repartizarea agenților fungici levuriformi identificați după apartenența de specie poate fi urmărită în Figura 3.1.



**Fig. 3.1. Structura principalelor specii de *Candida* din izolatele clinice (%)**

Din numărul total de izolate clinice, în 2754 s-a dovedit a fi prezentă specia *Candida albicans*, ceea ce reprezintă o pondere de 61,5% (ÎÎ 95% 59,4-63,7) care confirmă că această specie este cea mai frecvent implicată în patologia infecțioasă fungică. Reprezentanții *Candida non-albicans* au fost identificați în 38,5% (ÎÎ 95% 36,4-40,7) din izolatele clinice. Dintre speciile de *Candida non-albicans*, în 56,8% (ÎÎ 95% 54,7-59,0) (n=946) din cazuri au fost izolate tulpini de *Candida glabrata*. Cu toate că frecvența izolării acestei specii din biosubstraturile clinice este destul de înaltă, în comparație cu cea a speciei *Candida albicans* este de trei ori mai mică. Pe locul trei se situează specia *Candida krusei*, care a fost izolată în 31,8% (ÎÎ 95% 29,7-34,0) (n=418) din izolatele clinice. Speciile de *Candida parapsilosis* și *Candida tropicalis* pot fi clasate pe locul patru, cu 5,3% (ÎÎ 95% 3,2-7,5) (n=58) și 2,4% (ÎÎ 95% 0,3-4,6) (n=24) din cazuri, respectiv. Alte 12 specii de *Candida* au fost identificate în 3,7% (ÎÎ 95% 1,6-5,9) din cazuri, multe dintre ele fiind izolate într-o singură probă. Rezultatele obținute sunt în consens cu cele publicate la nivel mondial.

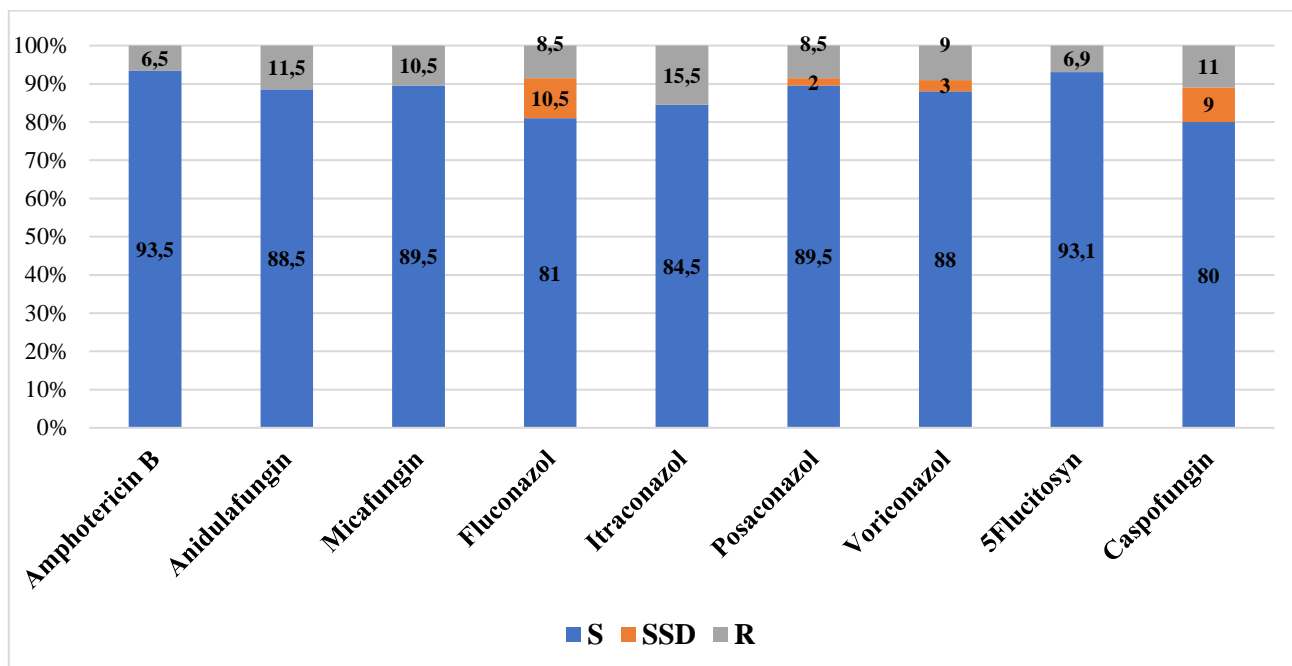
### 3.2. Evaluarea sensibilității la antifungice a levurilor din genul *Candida*

Tulpinile de fungi levuriformi din genul *Candida* au fost testate în vederea determinării sensibilității lor la cele mai utilizate antifungice, precum amfotericină B, fluconazol, itraconazol și 5-fluorocitozină. Rezultatele obținute au fost interpretate în baza a trei criterii: sensibile (S), sensibile la doze înalte (SSD) și rezistente (R).

O serie de tulpini izolate din cele mai relevante biosubstraturi clinice au fost testate la o gamă mai largă de preparate antifungice: amfotericina B, anidulafungina, micafungina, fluconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol, 5-flucitozina și caspofungina. Rezultatele obținute pot fi urmărite pe Figura 3.2.

Izolatele studiate au prezentat un nivel ridicat de sensibilitate față de toate preparatele antifungice testate. Pentru cinci dintre cele nouă preparate au fost identificate doar două categorii de sensibilitate – S și R, în timp ce pentru preparatele fluconazol, posaconazol, voriconazol și caspofungină au fost identificate izolate cu profil de sensibilitate la doze înalte de preparat. Nivelul de sensibilitate în eșantionul studiat față de cele nouă preparate testate a fost între 93,5% (ÎÎ 95% 91,2-95,5) și 80,0% (ÎÎ 95% 77,9-82,2), cel mai înalt fiind față de amfotericina B și 5-fluorocitozină, iar cel mai scăzut – față de fluconazol și caspofungină.

Din totalitatea izolatelor de *Candida* studiate, 93,5% (ÎÎ 95% 91,2-95,5) s-au dovedit a fi sensibile la amfotericina B și 6,5% (ÎÎ 95% 4,4-8,7) - rezistente.



**Fig. 3.2. Fungigrama speciilor de *Candida* la preparatele antifungice testate, (%)**

Analiza profilului de sensibilitate la antifungice a arătat că la anidulafungină 88,5% (ÎI 95% 86,4-90,7) din izolate au fost sensibile și 11,5% (ÎI 95% 9,4-13,7) – rezistente; la micafungină – 89,5% (ÎI 95% 87,4-91,7) – S și 10,5% (ÎI 95% 8,4-2,7) – R; la fluconazol – 81,0% (ÎI 95% 78,9-83,2) – S, 10,5% (ÎI 95% 8,4-12,7) – SSD și 8,5% (ÎI 95% 6,4-10,7) – R; la itraconazol – 84,5% (ÎI 95% 82,4-86,7) – S, 15,5% (ÎI 95% 13,4-17,7) – R; la posaconazol – 89,5% (ÎI 95% 87,4-91,7) – S, 2,0% (ÎI 95% -0,2-4,2) – SSD și 8,5% (ÎI 95% 6,4-10,7) – R; la voriconazol – 88,0% (ÎI 95% 85,9-90,2) – S, 3,0% (ÎI 95% 0,9-5,2) – SSD și 9,0% (ÎI 95% 6,9-11,2) – R; la 5-fluorocitozină – 93,1% (ÎI 95% 91,0-95,3) – S și 6,9% (ÎI 95% 4,8-9,1) – R și la caspofungină – 80,0% (ÎI 95% 77,9-82,2) – S, 9,0% (ÎI 95% 6,9-11,2) – SSD și 11,0% (ÎI 95% 8,9-13,2) – R.

### **3.3 Cercetarea exprimării factorilor de patogenitate a tulpinilor de *Candida* spp. izolate din biosubstraturi clinice**

Fungii patogeni posedă proprietăți importante, precum patogenitatea și virulența. Patogenitatea permite fungilor de a iniția un proces infecțios, dar aceasta nu se va dezvolta dacă fungii nu vor fi suficient de virulenți pentru a străbate barierele de apărare ale organismului uman și a pătrunde în el. Actualmente, identificarea factorilor de virulență la levuri joacă un rol major în elucidarea patogenezei infecțiilor fungice în vederea dezvoltării de noi preparate antifungice pentru a crește eficacitatea tratamentului acestora.

Mecanismele care modulează virulența fungilor levuriformi la moment nu sunt pe deplin cunoscute, însă deja sunt dovezi că deteriorarea și liza celulelor-gază sunt principalii factorii care contribuie la patogenitatea fungică. Fungii patogeni produc enzime degradante ce depolimerizează structurile, care le împiedică să pătrundă în organismul-gază, facilitând diseminarea și stabilirea bolii.

Astfel, în urma studiului a fost dovedită semnificația fosfolipazei extracelulare ca marker de diagnosticare a infecțiilor fungice și s-au obținut unele dovezi ale folosirii acesteia ca potențială țintă terapeutică împotriva dezvoltării bolii. În studiul dat, fosfolipaza extracelulară a fost pusă în evidență la 94% (74,6%; ÎI 95% 67,0-82,2) din tulpinile de *C. albicans*, 12,8% (ÎI 95% 4,4-14,6) dintre ele prezentând activitate enzimică moderată și



87,2% (Î 95% 85,1-89,4) – activitate enzimatică înaltă, iar 25,4% (17,8-33,0) de tulpini nu au produs această enzimă. Dintre speciile de *C. non-albicans*, cele mai multe tulpini producătoare de fosfolipază au fost înregistrate printre *C. tropicalis* – 53,8% (Î 95% 35,5-72,1), 94,3% (Î 95% 92,5-96,5) înregistrând activitate enzimatică moderată și 5,7% (Î 95% 3,6-7,9) – activitate enzimatică înaltă, iar la 46,2% (Î 95% 34,0-58,3) din tulpini nu a fost pusă în evidență această enzimă.

Producerea de proteaze este un alt factor de patogenitate care permite fungilor să invadeze organismul-gazdă și să hidrolizeze proteinele. În cercetarea realizată de noi a fost înregistrată producerea de proteaze la un număr mai mare de *C. albicans* - 78,6% (Î 95% 71,4-85,7), în comparație cu *C. non-albicans* – 52,5% (Î 95% 50,4-54,7). Sinteza acestei enzime a fost pusă în evidență la 55,4% (Î 95% 37,1-73,6) din tulpinile de *C. tropicalis*, 53,1% (Î 95% 18,2-88,1) din tulpinile de *C. glabrata* și la 42,9% (Î 95% 40,8-45,1) din tulpinile de *C. krusei*. Lipsa activității enzimatică a fost înregistrată la 21,4% (Î 95% 14,3-28,6) din tulpinile de *C. albicans*, la 44,6% (Î 95% 32,5-56,7) de *C. tropicalis*, la 46,9% (Î 95% 29,6-64,2) de *C. glabrata* și la 57,1% (Î 95% 36,0-78,3) de *C. krusei*.

Este foarte important de menționat rolul hemolizinelor în supraviețuirea levurilor și în invadarea organismului uman. Prin formarea porilor în membrana celulară, hemolizinele asigură diseminarea infecției în macroorganism și dezvoltarea simptomelor severe ale bolii. Producători de hemolizine s-au dovedit a fi 90,5% (Î 95% 85,4-95,6) din tulpinile de *C. albicans*, dintre care 50,9% (Î 95% 37,3-54,7) au manifestat activitate enzimatică moderată și 49,1% (Î 95% 35,8-53,1) - activitate enzimatică înaltă. Activitate enzimatică nu s-a înregistrat doar la 19,5% (Î 95% 17,4-21,7) din izolatele de *C. albicans*. Rata de exprimare al acestei enzime a fost înregistrată și la 88 din tulpinile de *C. non-albicans*, întâietatea revenind speciei *C. tropicalis* – 56,9% (Î 95% 38,7-75,1), urmată de *C. glabrata* – 96,9% (Î 95% 94,8-99,1) și *C. krusei* – 95,2% (Î 95% 93,1-97,4). La nici o tulpină de *C. glabrata* și de *C. krusei* nu s-a înregistrat activitate hemolizinică înaltă.

Exprimarea producerii deoxiribonucleazei extracelulare (DNA-azei) este sugestivă în determinarea patogenității *Candida* spp. DNA-aza este o enzimă care scindează acizii nucleici și asigură reducerea viscozității secrețiilor, în care se adună ADN-ul din celulele lezate, asigurându-le cu nucleotide pentru metabolismul de sinteză, favorizând răspândirea lor în organismul-gazdă. Această enzimă a fost detectată mai des la *C. albicans* – 26,2% (Î 95% 18,5-33,9), comparativ cu *C. tropicalis* – 20,0% (Î 95% 5,3-34,7), *C. krusei* – 42,9% (Î 95% 40,8-45,1) și *C. glabrata* – 3,1% (Î 95% 1,0-5,3).

Exprimarea factorilor de patogenitate enzimatică la izolatele de *Candida* spp. rezistente la antifungice s-a dovedit a fi mai înaltă comparativ cu tulpinile sensibile.

Tulpinile de *Candida* spp. rezistente la fluconazol au prezentat o pondere de exprimare a fosfolipazei, proteazei, hemolizinei și esterazei mai mare, constituind 83,0% (Î 95% 80,9-85,2), 84,5% (Î 95% 82,4-86,7), 92,3% (Î 95% 90,2-94,5) și 72,3% (Î 95% 70,2-74,5), respectiv, față de tulpinile sensibile – 35,0% (Î 95% 32,9-37,2), 37,4% (Î 95% 35,3-39,6), 26,6% (Î 95% 24,5-28,8) și 36,4% (Î 95% 34,3-38,6), respectiv. Diferențe mai puțin evidente au fost observate la producerea DNA-azei, tulpinile rezistente depășind cu 30,9% (Î 95% 28,8-33,1) pe cele sensibile.

Tulpinile de *Candida* spp. rezistente la 5-flucitozină au prezentat o pondere de exprimare a fosfolipazei, proteazei, hemolizinei și esterazei mai mare, constituind 74,2% (Î 95% 72,1-76,4), 88,4% (Î 95% 86,3-90,6), 100% (Î 95% 97,9-102,2) și 64,6% (Î 95%

62,5-66,8), respectiv, față de tulpinile sensibile. Diferențe mai puțin evidente au fost observate la producerea DNA-azei, depășind cu 42,2% (IÎ 95% 40,1-44,4) tulpinile susceptibile.

Un alt factor de patogenitate cercetat în acest studiu a fost activitatea antilizozim a speciilor de *Candida*. S-a dovedit că lizozimul provine din degradarea celulelor liniei granulocitare, monocitare, care conțin aceasta enzimă în lizozomi. Creșterea toleranței fungilor la acțiunea lizozimului este una dintre strategiile adoptate de fungi pentru a-și asigura persistența pe termen lung în organismul-gazdă.

Astfel, din cele 244 de tulpini izolate din biosubstraturi clinice, activitate antilizozim au prezentat 95,9% (IÎ 95% 93,8-98,1) în timp ce doar 4,1% (IÎ 95% 1,6-6,6) au fost inactive. Marea majoritate a tulpinilor clinice au manifestat grad mediu de exprimare a activității antilizozim – 53,4% (IÎ 95% 40,5-66,3) de *Candida* spp., inclusiv 54,5% (IÎ 95% 44,4-61,5) *C. albicans*, 47,6% (IÎ 95% 34,0-58,3) *C. tropicalis*, 53,6% (IÎ 95% 29,6-64,2) *C. glabrata* și 65,0% (IÎ 95% 41,1-82,7) *C. krusei*.

Rezultatele evaluării proprietății de inactivare a lizozimului a tulpinilor de *Candida* spp. rezistente și sensibile la fluconazol sunt prezentate pe Figura 3.7. Tulpinile rezistente au prezentat în 38,5% (IÎ 95% 36,4-40,6) din cazuri grad înalt de exprimare a activității antilizozim, 58,9% (IÎ 95% 56,8-61,1) – grad mediu și 2,6% (IÎ 95% 0,5-4,8) – grad mic. Tulpinile sensibile au prezentat un grad înalt de inactivare a lizozimului în 18,0% (IÎ 95% 15,9-20,2) din cazuri, iar grad mediu și mic de inactivare a lizozimului s-a înregistrat la câte 41,0% (IÎ 95% 38,9-43,2) din tulpini. Sistemul complement, un set complex de proteine și glicoproteine plasmatică (C1, C2, C3, ..., C9, B, D, P s.a.) ce se pot activa în cascadă, are proprietatea de a distruge fungii patogeni și deține un rol primordial în apărarea antiinfecțioasă și în reglarea funcției imune.

Pentru supraviețuire, fungii levuriformi patogeni au dezvoltat diverse mecanisme pentru inactivarea sistemului complement al organismului. În prezenta cercetare, din cele 244 de tulpini studiate, 93,4% (IÎ 95% 91,3-95,6) au prezentat activitate anticomplement, dintre care 62,3% (IÎ 95% 52,8-71,8) au inactivat complementul la o concentrație mai mare de 15 UH50/ml, 31,1% (IÎ 95% 19,0-43,3) – la o concentrație de la 5 UH50/ml până la 15 UH50/ml și 6,6% (IÎ 95% 4,5-8,8) – la o concentrație de 5 UH50/ml. Nu au inactivat complementul doar 16 tulpini sau 6,6% (IÎ 95% 4,5-8,8%).

Formarea biofilmelor joacă un rol semnificativ în patogenitatea fungilor. Acesta reprezintă un sistem complex, dinamic din punct de vedere structural, constituit de agenți microbieni atașați în mod ireversibil de suprafețe solide inerte sau vii, înconjurate de o matrice polimerică extracelulară. Această particularitate a fungilor, de a se organiza sub formă de biofilme, constituie una dintre principalele caracteristici ce facilitează și dezvoltarea rezistenței la antifungice a levurilor. Studiarea acestui fenomen prezintă importanță din punct de vedere clinic în cazul genului *Candida*, deoarece această caracteristică sporește probabilitatea dezvoltării candidemiei persistente, inclusiv ca rezultat al rezistenței crescute la agenții antifungici. În studiu dat, din cele 244 de tulpini izolate din biosubstraturi clinice, 52,9% (IÎ 95% 50,8-55,1) au produs biofilm detectabil ( $DO > 0,056$ ), iar 47,1% (IÎ 95% 40,9-53,4) nu au produs biofilm ( $DO \leq 0,056$ ). În ceea ce privește statutul de biofilm, 46,5% (IÎ 95% 33,5-59,5) de izolate au produs biofilm puternic aderent ( $DO > 0,220$ ), 12,4% (IÎ 95% 0,9-23,9) – biofilm moderat aderent ( $DO 0,112-0,220$ ) și 41,1% (IÎ 95% 19,6-62,6) – biofilm slab aderent ( $0,056 < DO \leq 0,112$ ).

Cel mai înalt grad de aderență și de formare a biofilmelor a fost înregistrat la speciile de *Candida non-albicans*, în special la *C. tropicalis* – 65,9% (Î 95% 63,8-68,1), urmată de *C. krusei* – 62,5% (Î 95% 60,4-64,7) și *C. glabrata* – 50,0% (Î 95% 47,9-52,2).

Dintre speciile de *C. albicans*, biofilm puternic aderent au format 30,8% (Î 95% 28,7-33,0) dintre tulpini, 12,3% (Î 95% 10,2-14,5) – biofilm moderat aderent și 56,9% (Î 95% 54,8-59,1) – biofilm slab aderent.

Evaluarea corelației dintre capacitatea de formare a biofilmelor și rezistența izolatelor de *Candida* spp. la fluconazol a arătat că din izolatele care formează biofilm puternic aderent 52,6% (Î 95% 50,5-54,8) au constituit izolate rezistente la fluconazol, în timp ce la tulpinile sensibile nu s-a înregistrat formarea de biofilm puternic aderent.

Izolatele rezistente la 5-flucitozină au format, în principal, biofilm puternic aderent – 68,4% (Î 95% 66,3-70,6) din tulpini, 11,9% (Î 95% 9,8-14,1) au format biofilm moderat aderent și 19,7% (Î 95% 17,6-21,9) – biofilm slab aderent.

Izolatele sensibile la 5-flucitozină au format preponderent biofilme slab aderente – 97,4% (Î 95% 95,3-99,6).

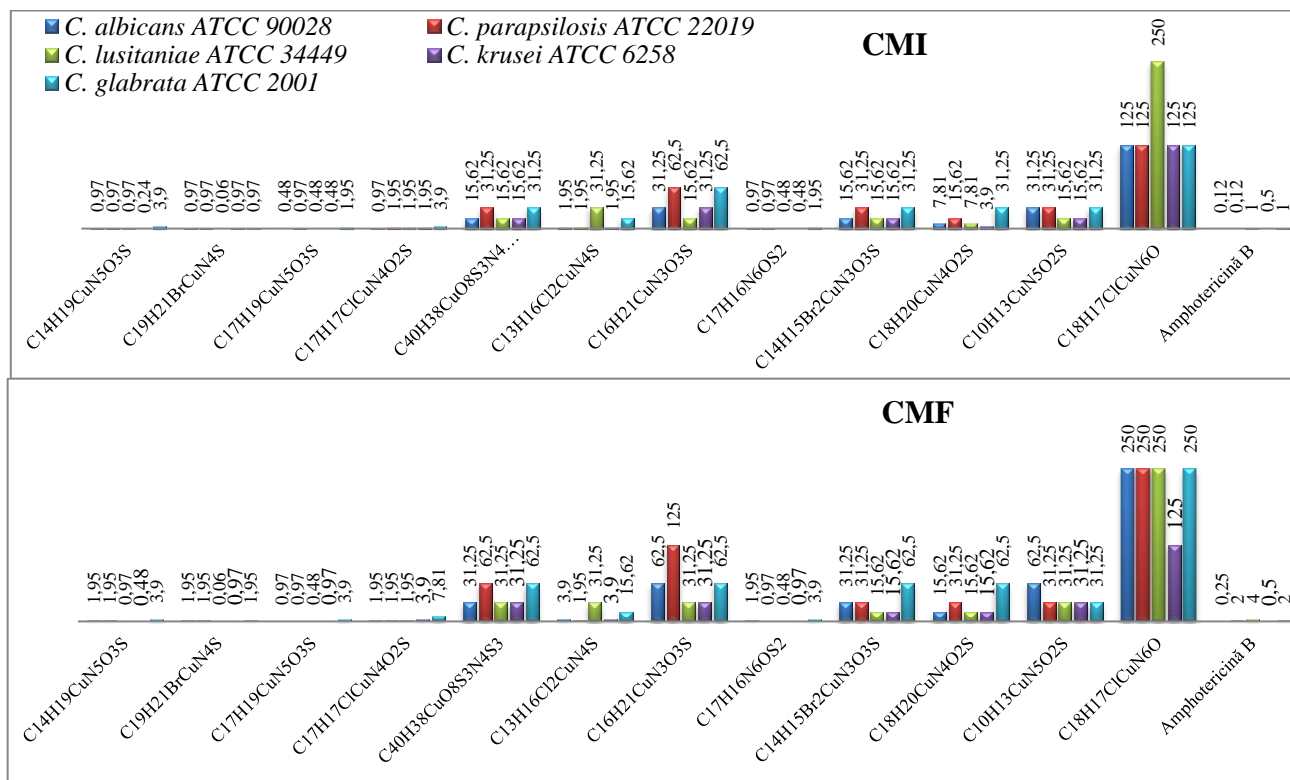
#### **4. ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A UNOR COMPUȘI NOI DE ORIGINE CHIMICĂ ȘI BIOLOGICĂ DE INTERES FARMACEUTIC**

Acest capitol este dedicat problemei identificării unor noi formule farmaceutice cu acțiune antifungică. Conține descrierea analizei comparative a rezultatelor evaluării activității antifungice a unor noi molecule sintetice și substanțe biologice. Inițial a fost determinată activitatea fungistatică și fungicidă asupra micetelor levuriforme a compușilor testați separat, prin screening-ul a peste 900 compuși chimici și extracte biologice. Ulterior s-a stabilit concentrația minimă inhibitorie și minimă fungicidă atât pe tulpinile de referință, cât și pe fungii izolați din diverse biosubstrate umane. A fost evaluată activitatea substanțelor monocomponente și policomponente asupra exprimării factorilor de virulență ai izolatelor clinice. La etapa următoare substanțele care au prezentat o activitate antifungică mai evidentă au fost modelate experimental în combinație, pentru evaluarea sinergismului și timpului de ucidere a fungilor. În baza datelor au fost elaborate certificate de inovație, zece brevete de invenție. Evaluarea acțiunii citotoxice a noilor compuși au fost realizată față de *Daphnia magna*.

##### **4.1. Activitatea antifungică a compușilor noi asupra tulpinilor tip de fungi**

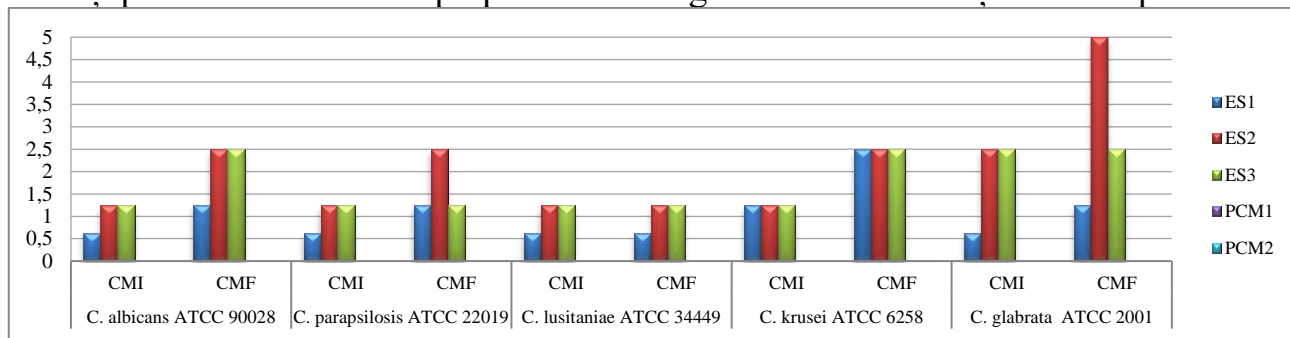
În screening-ul primar au fost incluși 84 de compuși chimici noi din două grupe. În grupa A au intrat compuși coordinați ai metalelor 3d cu tiosemicarbazone, aldehide și cetone, iar în grupa B – compușii coordinați ai metalelor 3d cu aminoguanazonă, aldehide și cetone. În conformitate cu datele screening-ului primar, din prima grupă au fost selectați 11 compuși, iar din cea de-a doua – un compus. Acești compuși au fost incluși în cercetările efectuate ulterior.

Rezultatele obținute cu referire la valorile CMI ale compușilor selectați în raport cu tulpinile tip din genul *Candida* sunt prezentate în figura 4.1.

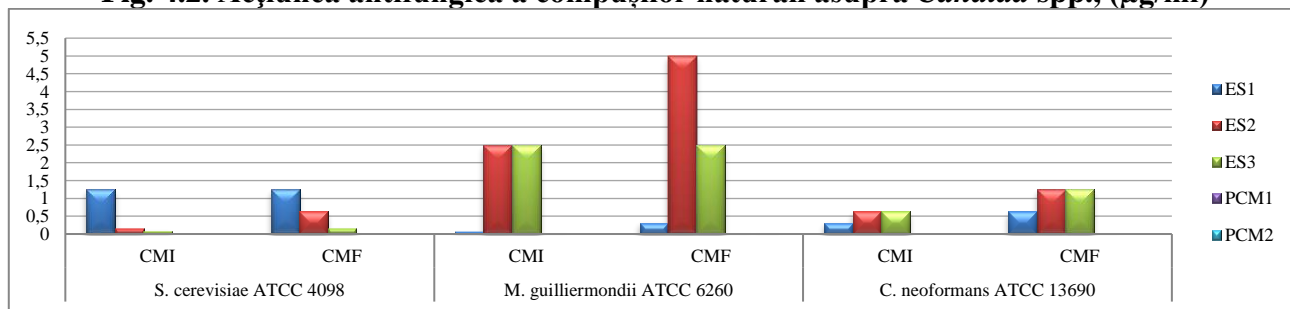


**Fig. 4.1. Activitatea antifungică a compușilor chimici asupra *Candida* spp. – CMI și CMF, (µg/ml)**  
 Compușii analizați mai sus au prezentat activitate antifungică și față de tulpinile tip din genurile *Saccharomyces*, *Cryptococcus* și *Meyerozyma*.

În cadrul acestui studiu au fost identificați 5 compuși chimici noi ai cuprului cu tiosemicarbazone, aldehide și cetone, care au avut activitate antifungică înaltă față de opt tulpini de fungi levuriformi din patru genuri, cu valori ale CMI de până la 1 µg/ml și CMF de până la 10 µg/ml. Acești compuși chimici noi prezintă interes în calitate de potențiali candidați pentru dezvoltarea de preparate antifungice cu efecte direcționate asupra levurilor.



**Fig. 4.2. Acțiunea antifungică a compușilor naturali asupra *Candida* spp., (µg/ml)**



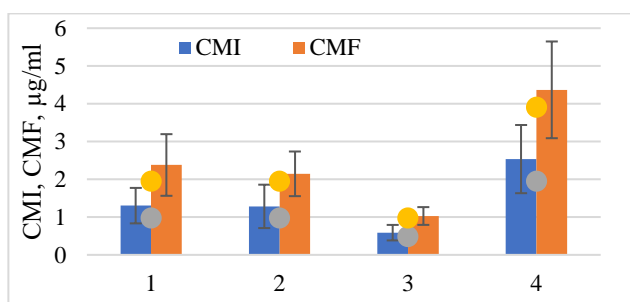
**Fig. 4.3. Acțiunea antifungică a compușilor naturali asupra *Saccharomyces* spp., *Cryptococcus* spp. și *Meyerozyma* spp. (µg/ml)**

Este cunoscut faptul că activitatea compușilor biologici este mai scăzută comparativ cu cea a compușilor chimici. În schimb, compușii biologici au alte puncte forte, cum ar fi: acceptarea de către pacienți mai mare față de acceptarea compușilor de sinteză, nivel minim sau lipsa completă a efectelor adverse, polifuncționalitate, care presupune acțiunea asupra mai multor ținte datorită matricei complexe ș.a.

În cercetare au fost incluși pentru testare, similară celei descrise mai sus, și cinci compuși naturali, extracte din biomasa cianobacteriei *Spirulina*. Rezultatele cu referire la efectele acestor compuși asupra tulpinilor tip de fungi sunt prezentate în 4.2 și 4.3.

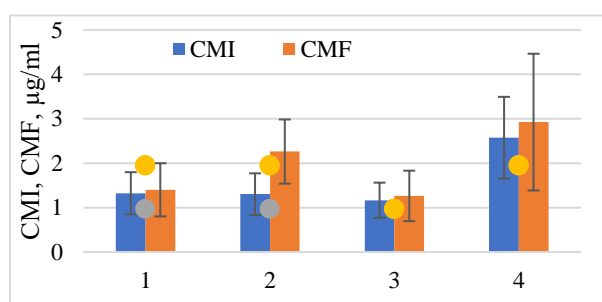
#### 4.2. Evaluarea acțiunii antifungice a compușilor chimici și biologici testați față de tulpinile izolate din biosubstraturi umane

Este cunoscut faptul că tulpinile clinice pot avea un nivel de rezistență diferit de cel al tulpinilor tip la acțiunea compușilor antifungici, de aceea toți cei 12 compuși examinați au fost testați și în raport cu tulpinile clinice de fungi levuriformi. În total, în calitate de obiecte de studiu au servit câte 50 de tulpini care se referă la trei specii: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*. Dintre cei 12 compuși chimici, șase s-au dovedit a fi activi în raport cu tulpinile clinice din cele trei specii de fungi. Valorile CMI și ale CMF obținute pentru acești compuși, exprimate în valoare medie ±deviația standard, sunt prezentate în figura 4.4.



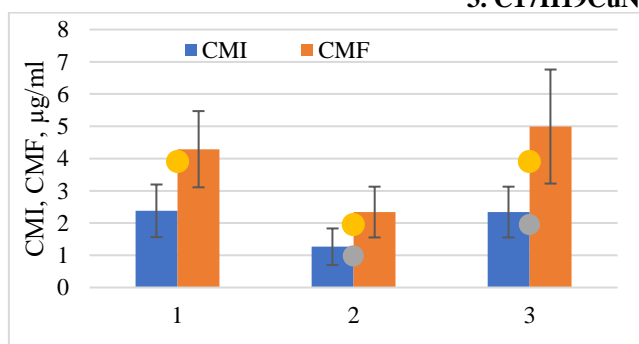
Activitatea antifungică a compușilor chimici în raport cu tulpinile clinice de *C. albicans* și în raport cu tulpina tip *C. albicans* ATCC 90028.

1. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S; 2. C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>BrCuN<sub>4</sub>S; 3. C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S; 4. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>S



Activitatea antifungică a compușilor chimici în raport cu tulpinile clinice de *C. parapsilosis* și în raport cu tulpina tip *C. parapsilosis* ATCC 22019.

1. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S; 2. C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>BrCuN<sub>4</sub>S; 3. C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S; 4. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>S



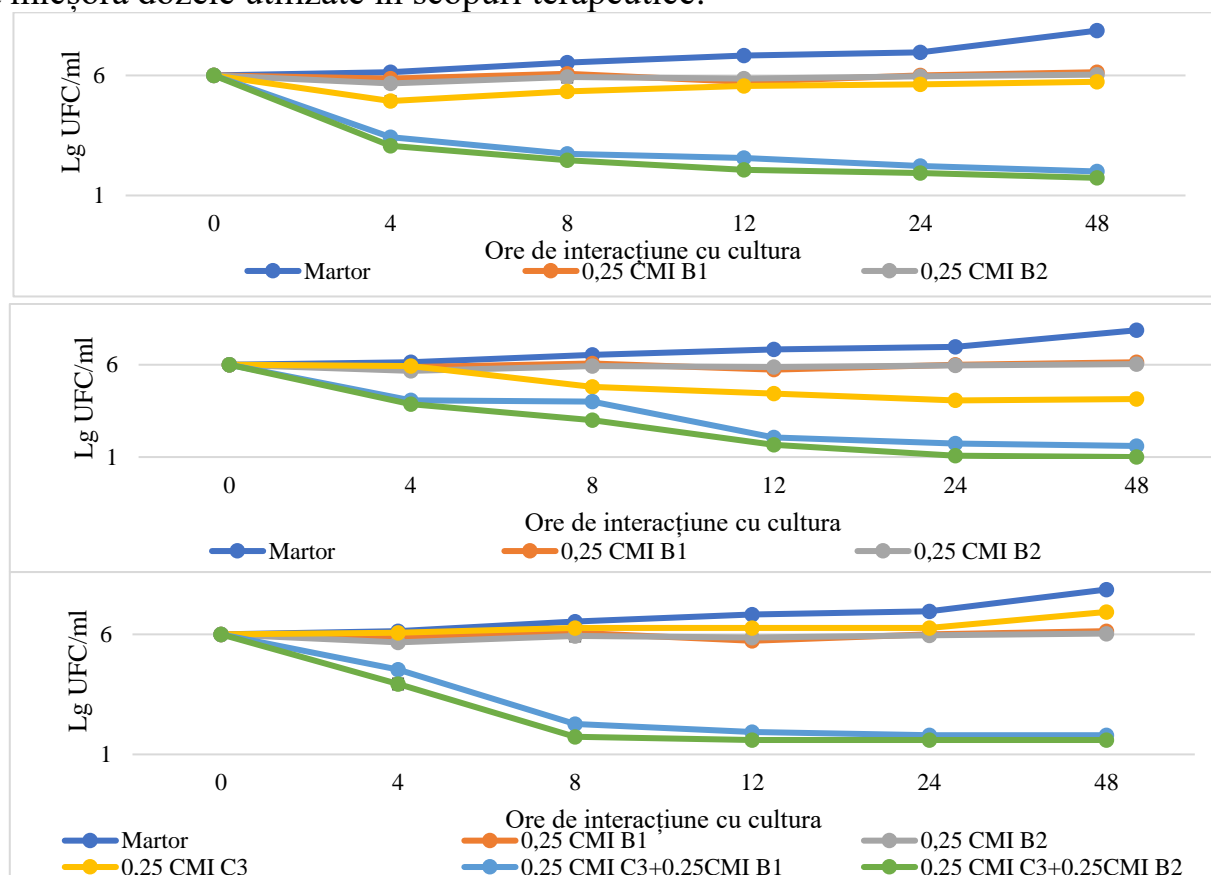
Activitatea antifungică a compușilor chimici în raport cu tulpinile clinice de *C. glabrata* și în raport cu tulpina tip *C. glabrata* ATCC 2001. 1. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S; 2. C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>BrCuN<sub>4</sub>S; 3. C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S

Fig. 4.4. Activitatea antifungică a compușilor chimici asupra tulpinilor tip și clinice, (µg/ml)

#### 4.3. Acțiunea sinergică a compușilor chimici și biologici testați asupra tulpinilor tip de fungi levuriformi

Problema majoră cu care se confruntă medicina contemporană, pe lângă dezvoltarea rapidă a formelor de rezistență la antimicrobiene de către microorganismele patogene,

inclusiv fungi, este toxicitatea înaltă al antibioticelor de generațiile noi. O cale de a diminua efectele toxice ale acestor preparate asupra organismului uman este identificarea posibilității de a micșora dozele utilizate în scopuri terapeutice.



**Fig. 4.5. Curbele timpului de ucidere a compușilor chimici și biologici și a combinațiilor lor în raport cu tulpina *Candida albicans* ATCC 90028. C1 - bromo{N-ciclohexil-N'-[fenil(piridin-2-il)metiliden]carbamohidrazono-tioat}cupru; C2 - dicloro{(prop-2-en-1-il)-N-(prop-2-en-1-il)-N'-[(piridin-2-il)metili-den] carbamo-hidrazonotioat}cupru, C3 - nitrato{N-ciclohexil-N'-[(1-(piridin-2-il)etiliden] carbamohidra-zonotioato}cupru; B1 – PCM1; B2 – PCM2**

Acest deziderat poate fi atins prin explorarea fenomenului de sinergism. Sinergism în raport cu tulpinile rezistente de *Candida albicans* a fost observat la combinarea compușilor chimici obținuți pe bază de pirazolină și ale complexelor lor de cupru (II) și nichel (II) cu antifungice convenționale. Concentrațiile aplicate pentru toți compușii luați în studiu au constituit 1/4 din CMI identificate. Culturile fungice au fost incubate pe durata a 48 de ore cu trei compuși chimici și doi compuși biologici (PCM1 și PCM2), aplicați atât individual, cât și în combinație. Numărul de celule viabile a fost determinat la 4, 8, 12, 24 și 48 de ore de la momentul inițierii contactului dintre compușii aplicați și cultura fungică. Datele obținute reflectă rezultatele în cazul tulpinii *C. albicans* ATCC 90028 (Figura 4.5).

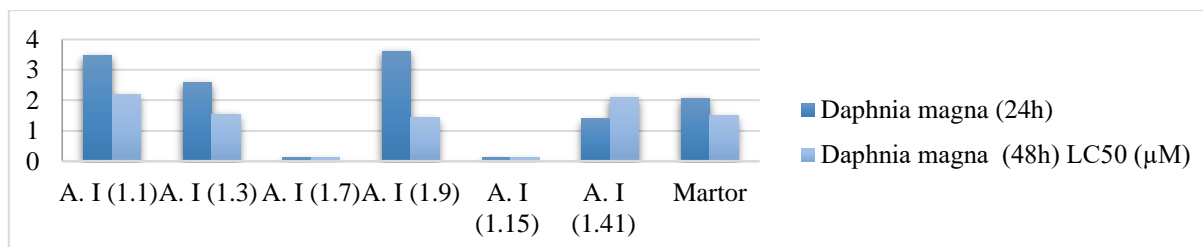
#### **4.4. Evaluarea toxicității acute a compușilor chimici testați cu ajutorul testului de imobilizare a crustaceului *Daphnia magna***

Pentru determinarea toxicității compușilor chimici s-a efectuat testul de imobilizare față de crustaceul *Daphnia magna* conform metodologiei europene standardizată (OECD). Realizarea testului a permis evaluarea toxicității acute a compușilor testați la 24 și la 48 de ore de acțiune asupra crustaceului *Daphnia magna*, exprimată sub formă de concentrație mediană efectivă (CE50), care a rezultat în imobilizare, și cea mai mare concentrație care



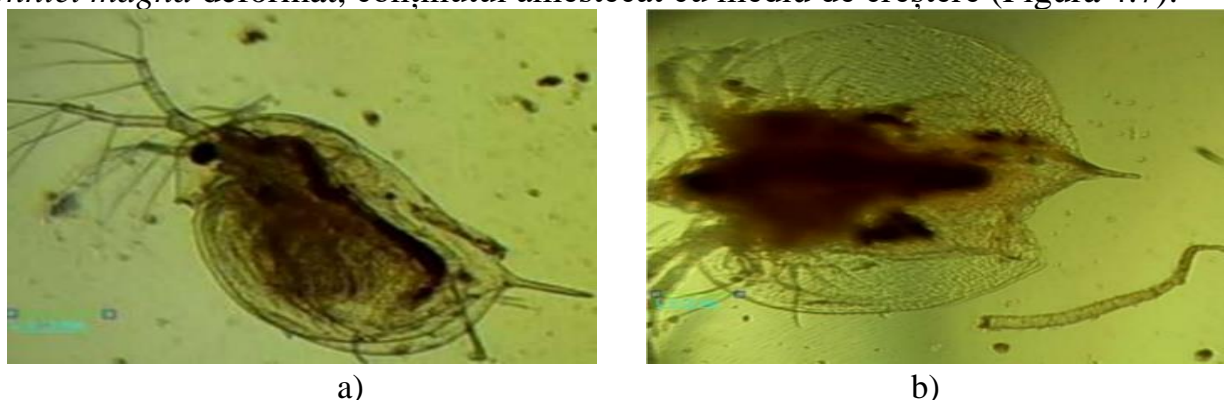
nu provoacă imobilizare. Activitățile biologice ale compușilor testați au fost comparate cu cele ale compușilor de referință.

Toxicitatea compușilor chimici supuși testării a fost prezentată sub forma valorilor de concentrație medie letală (LC50), care au fost calculate prin formula și raportul doză-răspuns determinat prin metoda potrivirii celor mai mici pătrate cu ajutorul software-ului GraphPad Prism. Datele obținute sunt prezentate ca medii  $\pm$  o deviere standard (DS) (Figura 4.6).



**Fig. 4.6. Toxicitatea compușilor testați prezentată sub forma valorilor de concentrație medie letală (LC50)**

Efectul influenței compușilor în concentrație medie letală (LC50) asupra *Daphnia magna* a fost determinată prin examenul microscopic care denotă evidențierea a unor mișcări ușoare a peste 50% din aceste organisme nevertebrate. S-a observat că o parte din dafnii au rămas nemișcate, în special la concentrații mari ale compusului chimic, deoarece au prezentat un efect citotoxic total. La examinare s-a observat trunchiul, membrele *Daphniei magna* deformat, conținutul amestecat cu mediul de creștere (Figura 4.7).

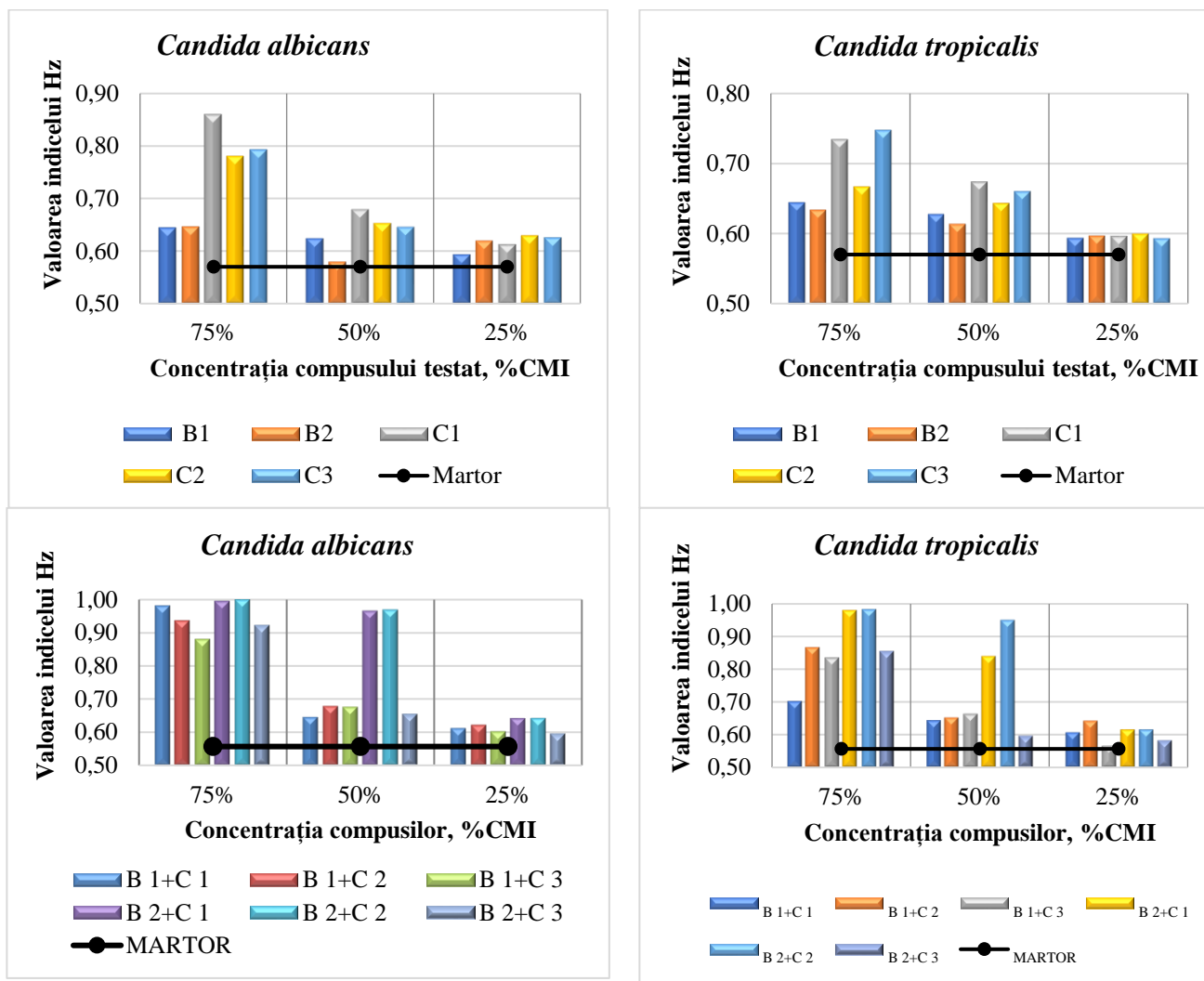


**Fig. 4.7. Imagini *Daphnia magna* (microscopia optică) sub influența compușilor chimici:**  
**a) *Daphnia magna* fără contact cu compuși chimici, nu se vizualizează modificări patologice;**  
**b) *Daphnia magna* după contact cu compuși chimici, se observă că membrele și corpul au fost deformate și conținutul s-a amestecat cu mediul de creștere.**

#### **4.5. Influența compușilor chimici și biologici testați, și a combinațiilor lor asupra factorilor de patogenitate ai *Candida albicans* și ai *Candida tropicalis***

În studiul dat s-a urmărit și evidențierea modificărilor expresiei factorilor de patogenitate ai tulpinilor ce se referă la două specii de *Candida* – *Candida albicans* și *Candida tropicalis*. În acest compartiment al lucrării au fost testate atât compușii individuali, cât și combinațiile lor. Astfel, în regim de monosistem au fost testate două extracte de spirulină ES1 (B1) și PCM2 (B2), și trei compuși chimici: C1 -  $C_{19}H_{21}BrCuN_4S$ ; C2 -  $C_{17}H_{19}CuN_5O_3S$ ; C3 -  $C_{17}H_{16}N_6OS_2$ .

Compușii au fost aplicați în concentrații de 25, 50 și 75% din valoarea CMI pentru fiecare în mod individual. Au fost testate și combinațiile dintre compușii chimici și cei naturali, în aceleași concentrații, care constituie 25, 50 și 75% din CMI pentru fiecare compus luat în parte.



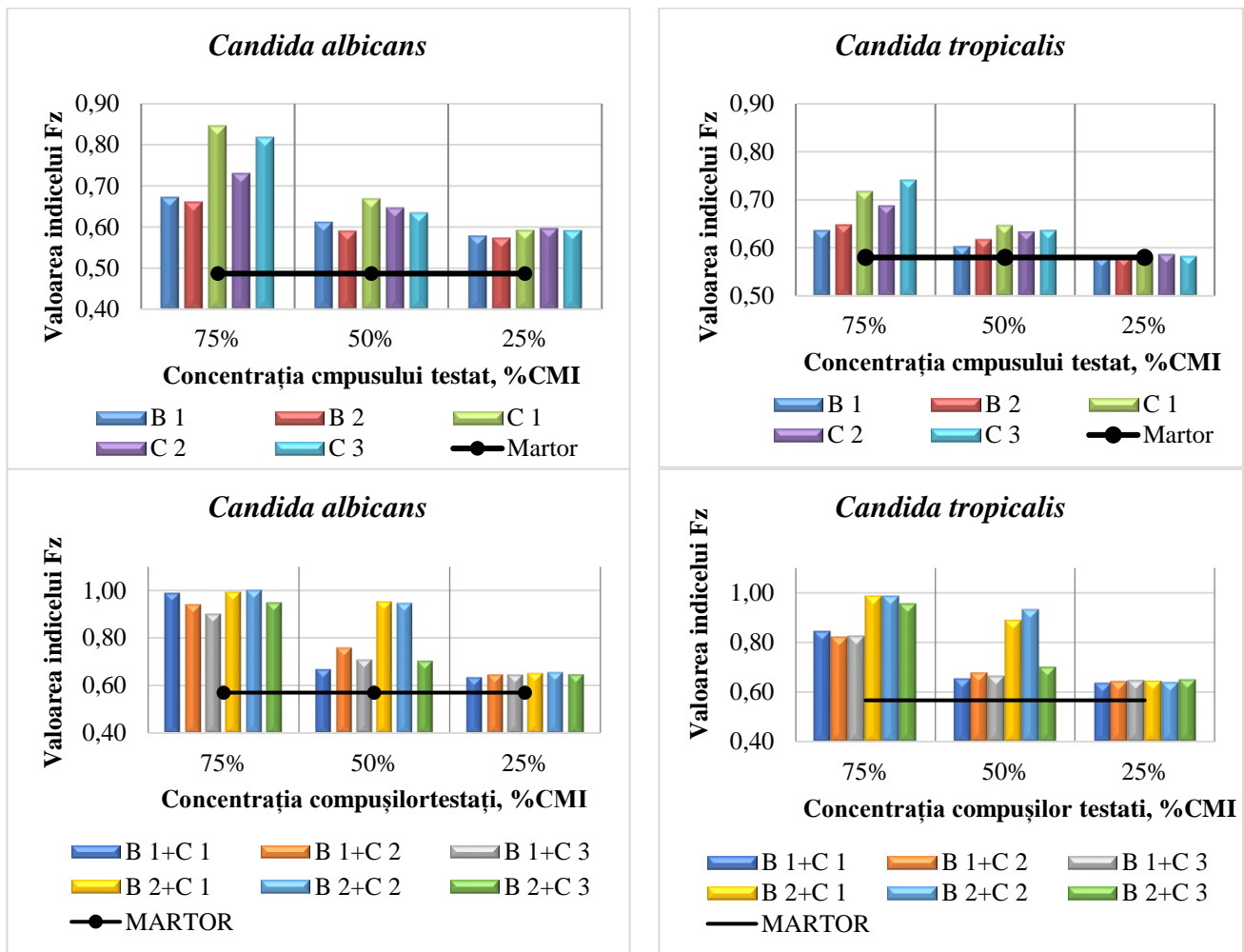
**Fig. 4.8. Acțiunea compușilor chimici și biologici și a combinațiilor lor asupra activității hemolizinei la *Candida albicans* și la *Candida tropicalis***

Cele mai bune rezultate au fost obținute în cazul aplicării combinațiilor de 75% CMI a compușilor chimici noi și biologici. În acest caz, pentru *Candida albicans* cele două combinații menționate mai sus au arătat inhibiție totală a activității hemolizice (Figura 4.8). În cazul *Candida tropicalis* de asemenea, au fost obținute rezultate foarte bune la acest nivel de concentrații, dar puțin mai modeste comparativ cu specia *C. albicans*.

Activitatea fosfolipazei fungice și modificarea ei sub acțiunea compușilor biologici și chimici și a combinațiilor acestora este redată în figura 4.9.

Un alt factor de patogenitate studiat a fost activitatea proteinazei. Concentrațiile de 25% CMI ale compușilor biologici și chimici aplicate în mod individual nu au avut un efect de inhibarea activității proteinazice eliberate de *C. tropicalis*. La tulpinile de *C. albicans*, chiar și această concentrație a dus la o creștere cu 12,4 – 20,9% a valorii indicelui Fz comparativ cu martorul. Concentrația de 50% CMI a compușilor biologici și chimici aplicați au avut un efect uniform în cazul *C. tropicalis*, provocând o creștere a indicelui Fz cu 11,3-14,9% față de martor. În cazul concentrației de 50% CMI indicele Fz la *C. albicans*, a crescut în limite destul de înguste – cu 16,3-28,1% față de martor, dar totuși, mai pronunțat în cazul compușilor chimici, decât a celor biologici. Concentrația de 75% CMI a dus la o majorare uniformă a valorii Fz, variind în limite destul de înguste în funcție de specie și compus – de la 0,64 până la 0,80.

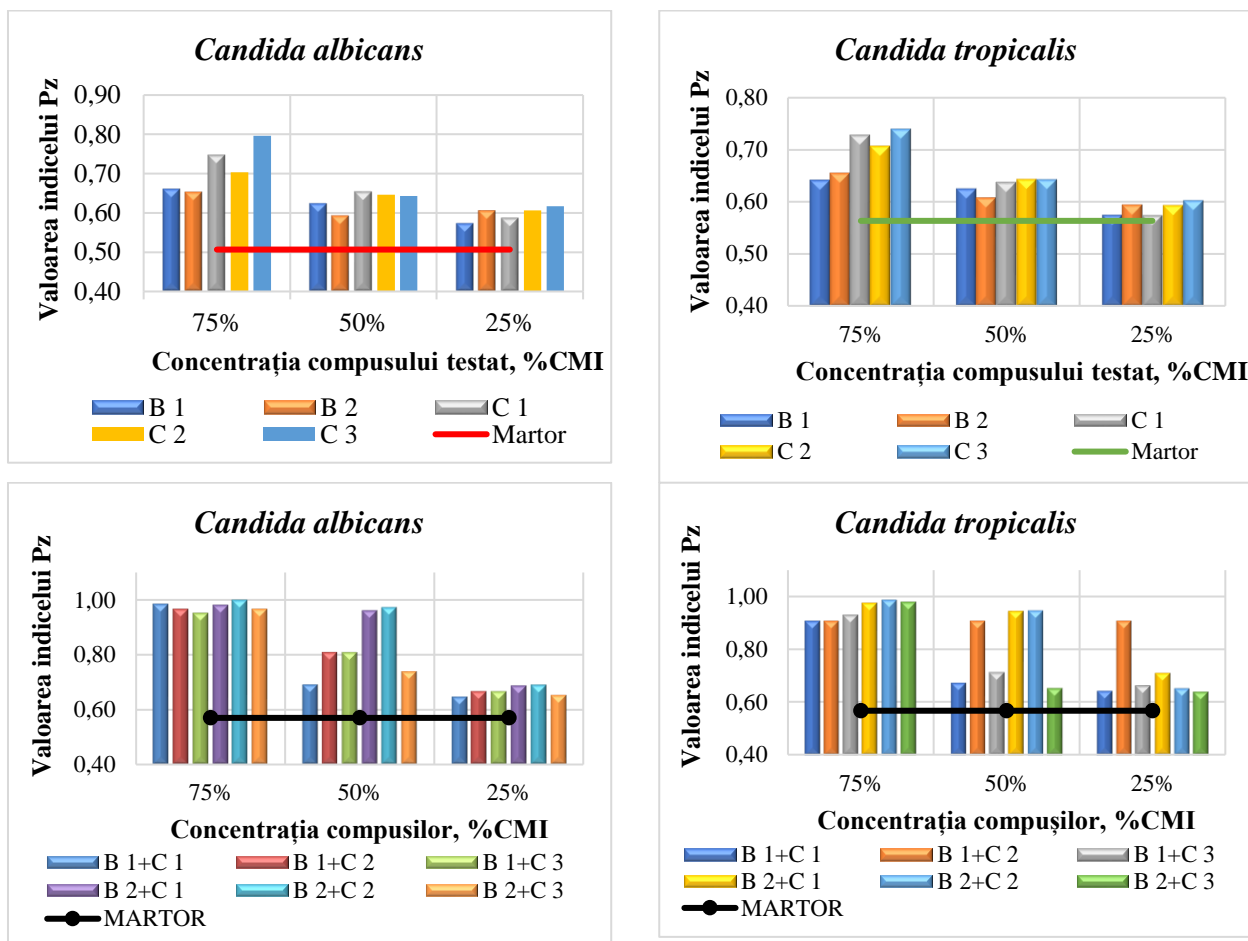




**Fig. 4.9. Acțiunea compușilor chimici și biologici și a combinațiilor lor asupra activității fosfolipazei la *Candida albicans* și *Candida tropicalis***

Proteinaza pare a fi cel mai rezistent factor de patogenitate la acțiunea compușilor selectați aplicați în mod individual, comparativ cu hemolizina și fosfolipaza fungică, care au fost mai sensibile. Combinațiile dintre compușii biologici și cei chimici au fost mai active, comparativ cu compușii aplicați în mod individual (Figura 4.10). La concentrațiile de 25% CMI ale compușilor în combinații, valoarea indicelui Fz a crescut cu 12,9-24,6% comparativ cu martorul la ambele specii. La concentrația de 50% CMI a compușilor testați încă două combinații ies în evidență. Acestea sunt combinațiile dintre PCM2 și cei doi compuși chimici cu conținut de cupru. Concentrațiile de 75% CMI a substanțelor în combinații au asigurat un nivel foarte înalt de inhibiție al activității proteinazei, valorile Fz fiind peste 0.9 pentru ambele specii și toate combinațiile analizate. Astfel, chiar dacă la nivel de substanțe aplicate în regim de monositem, proteinaza se părea a fi un factor de patogenitate mai puțin sensibil la acțiunea compușilor selectați, combinațiile dintre aceștia au efecte sinergice pronunțate, inhibând semnificativ activitatea acestui factor.

Pattern-urile de interacțiune ale culturilor de fungi levuriformi cu compușii chimici, biologici și combinațiile acestora sunt foarte apropiate între ele și scot în evidență efecte foarte pronunțate ale combinațiilor de compuși, în comparație cu compușii aplicați în mod individual. Fenomenul efectelor antifungice performante ale combinațiilor dintre compușii chimici și cei biologici se bazează pe interacțiunea preponderent sinergică dintre aceștia, dovedit prin aplicarea modelului indicelui de concentrație al inhibiției factoriale (ICIF).



**Fig. 4.10. Acțiunea compușilor chimici și biologici și a combinațiilor lor asupra activității proteinazei la *Candida albicans* și la *Candida tropicalis***

Explorarea acestui fenomen poate asigura reducerea dozei de compus chimic de 4-32 de ori în condițiile aceleiași efect antifungic.

## 5. NANOPARTICULE DE AG STABILIZATE CU DIVERȘI DERIVAȚI NATURALI ȘI PROPRIETĂȚILE LOR ANTIFUNGICE

### 5.1. Caracterizarea noilor nanosisteme antifungice bazate pe nanoparticule de argint generate din pululan, 6-carboxi pululan și derivați celulozici

În acest subcapitol sunt prezentate rezultatele caracterizării nanoparticulelor de argint obținute în dezvoltarea de noi nanosisteme antifungice, bazate pe AgNPs și stabilizate cu derivați naturali, precum polizaharidele: pululan, 6-carboxipululan (pululan oxidat) și diverși derivați celulozici în scopul utilizării ulterioare în diferite domenii ale medicinei, inclusiv în dezvoltarea de noi formule farmaceutice cu efect antifungic.

Într-o prima parte a acestei direcții de cercetare a fost efectuată oxidarea pululanului la 6-carboxipululan în prezența radicalului 2,2,6,6-tetrametilpiperidină-N-oxil (TEMPO), radical nitroxilic extrem de eficient în reacțiile de oxidare selectivă a polizaharidelor. Reacția de oxidare a pululanului a fost realizată în condiții de presiune atmosferică, la temperatura camerei și la pH 10. Reacția de oxidare a pululanului în prezența sistemului TEMPO/NaBr/NaOCl (Figura 5.1.) poate fi privită ca un proces în trepte, distingându-se trei etape diferite: I. Formarea hipobromitului de sodiu (NaOBr) în mediul de reacție, în prezența hipocloritului de sodiu (NaOCl) și a bromurii de sodiu (NaBr); II. Formarea ionului de oxoamoniu în mediul de reacție; III. Oxidarea grupelor alcoolice primare la grupe

carboxilice, cu formarea intermediară a grupărilor aldehidice. Pentru a confirma oxidarea pululanului la 6-carboxipululan s-a utilizat atât spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR), cât și spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (RMN), rezultatele investigații fiind prezentate în continuare.

Oxidarea pululanului poate fi observată cu ușurință cu ajutorul spectroscopiei FTIR. Figura 5.2. prezintă spectrele FTIR ale probei de pululan inițial și ale probei de pululan oxidat. Pentru a se evita interferența benzilor de absorbție ale apei ( $1647\text{ cm}^{-1}$ ) cu banda de absorbție a grupărilor carboxilice, pululanul oxidat a fost acidificat cu o soluție de HCl ( $0,5\text{M}$ ), grupele  $-\text{COONa}$ , fiind convertite la  $-\text{COOH}$ , banda de absorbție specifică grupărilor carboxilice apărând la un număr de undă mai mare. Analizând comparativ spectrele, se observă că în cazul pululanului oxidat apare o nouă bandă la  $1701\text{ cm}^{-1}$ , specifică grupărilor carboxilice.

Microscopia electronică de baleiaj cu sistem de analiză elementală (EDAX) oferă, informații valoroase despre compoziția elementală a probelor investigate (Figura 5.1.)

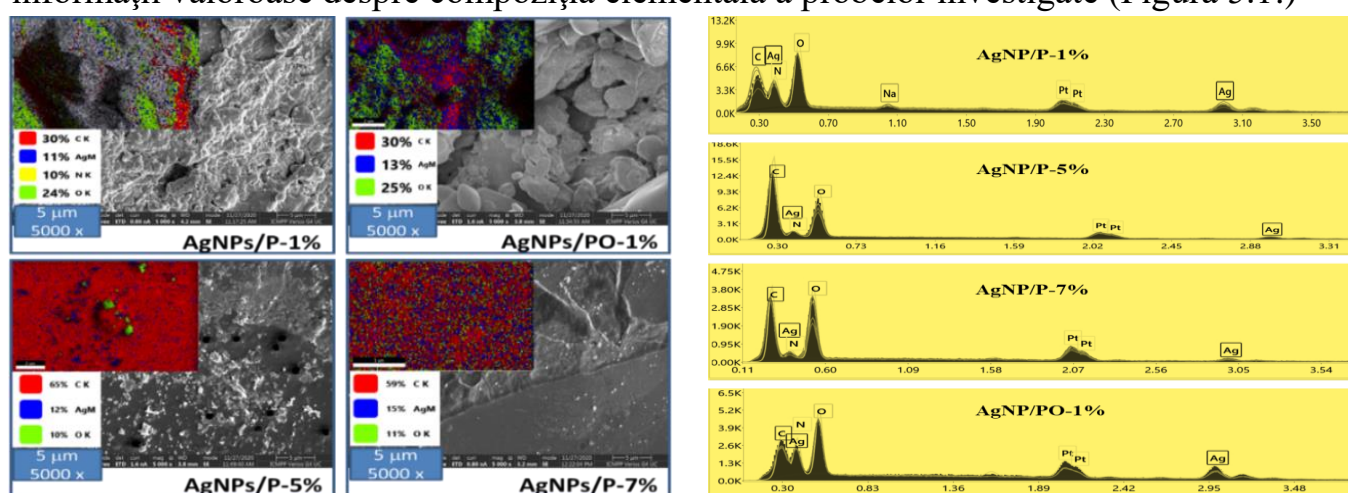


Fig. 5.1. Date SEM-EDAX ale nanoparticulelor de argint și spectrele EDAX

Studiul dat a presupus combinarea unei derivați celulozici (CA, HPC, MC și EC) cu soluția de  $\text{AgNO}_3$  la temperatura camerei. Soluția de polimer și-a schimbat culoarea la adăugarea soluției de azotat de Ag, de la incolor la galben-deschis spre maro-închis, în funcție de derivatul celulozic utilizat, indicând formarea de AgNP-uri (Figura 5.2.).

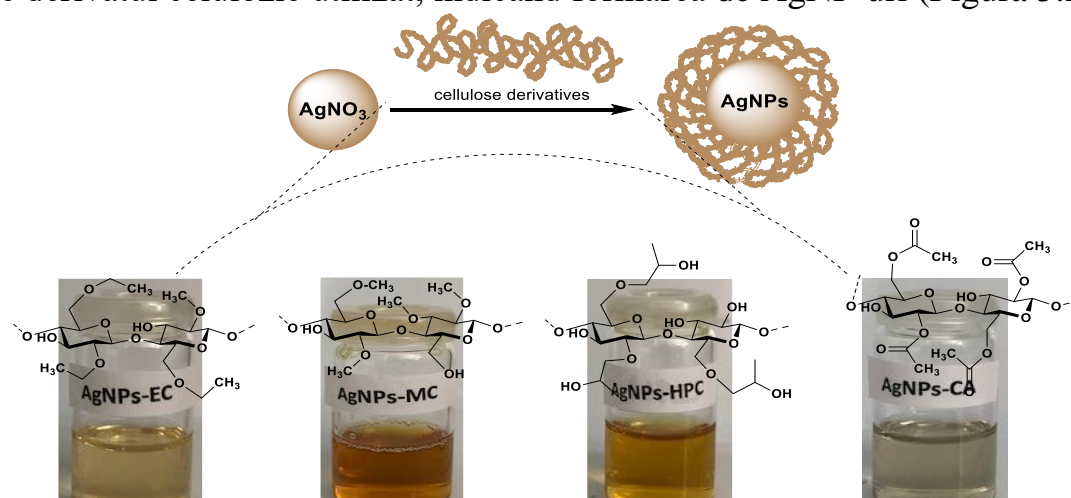


Fig. 5.2. Obținerea Nanoparticulelor de argint mediată de derivații de celuloză acetatul de celuloza (CA), etilceluloza (EC), metilceluloza (MC) și hidroxipropilceluloza (HPC)

În aceste sisteme, derivații celulozici au capacitatea de a reduce ionii de Ag<sup>+</sup> la argint elementar, aparând fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață (SPR) (Figura 5.8). Practic, prin combinarea celor două soluții, ionul de argint a interacționat cu derivatul celulozic și a creat un complex Ag [derivat de celuloză] <sup>+</sup>. Ca precursor intermediar, derivatul celulozic a transformat Ag<sup>+</sup> în (Ag [derivat de celuloză]). AgNP-urile formate sunt stabilizate coloidal, prin intermediul sarcinilor negative ale derivaților celulozici care acoperă grupările încărcate pozitiv de pe suprafața lor (Ag [derivat celulozic]).

## **5.2. Screening-ul calitativ al sensibilității tulpinilor tip și clinice de fungi față de potențiala acțiune antifungică a nanoparticulelor de Ag generate din polizaharide**

Evaluarea distribuției tulpinilor clinice testate cu referire la potențialul antifungic al nanoparticulelor de argint generate din polizaharide denotă apartenența la cinci genuri de fungi: *Candida* 94,0% (ÎÎ 95% 91,9-96,2), *Cryptococcus* – 1,0% (ÎÎ 95% 1,2-3,2), *Magnusiomyces* – 1,0% (ÎÎ 95% 1,2-3,2), *Saccharomyces* – 3,0% (ÎÎ 95% 0,9-5,2) și *Trichosporon* – 1,0 (ÎÎ 95% 1,2-3,2). Genurile *Magnusiomyces capitatus* și *Trichosporon asahii* au fost reprezentate de o singură specie fiecare cu câte un izolat – 1,0% (ÎÎ 95% 1,2-3,2). Genul *Saccharomyces* a fost reprezentat de o singură specie - *S. cerevisiae* cu trei izolate – 3,0% (ÎÎ 95% 0,9-5,2). Cel mai numeros gen din acest studiu a fost *Candida* spp., cu 15 specii și 94,0% (ÎÎ 95% 91,9-96,2) din izolatele clinice. Cele mai multe izolate au fost reprezentate de specia *Candida glabrata* cu 27,0% (ÎÎ 95% 24,9-29,2) din izolate, urmată de specia *Candida albicans* cu 23,0% (ÎÎ 95% 20,9-25,2) din izolate și *Candida parapsilosis* cu 16,0% (ÎÎ 95% 13,9-18,2). *Candida krusei* a fost reprezentată de 5,0% (ÎÎ 95% 2,9-7,2); *Candida guilliermondii* și *Candida tropicalis* - cu câte 4,0% (ÎÎ 95% 1,9-6,2) fiecare; *Candida lusitaniae* - cu 3,0% (ÎÎ 95% 0,9-5,2); *Candida famata*, *Candida kefyr*, *Candida norvegensis* și *Candida utilis* - câte 2,0% (ÎÎ 95% 0,2-4,2) fiecare; și *Cryptococcus neoformans*, *Candida pulcherrima*, *Candida pelliculosa*, *Candida dubliniensis*, *Candida robusta* – cu câte 1,0% (ÎÎ 95% -1,2-3,2) fiecare.

Screening-ul calitativ al activității antifungice a nanoparticulelor de argint (AgNPs) generate din pululan, 6-carboxipululan și derivați celulozici (AgNPs-MC, AgNPs-HPC, AgNPs-CA, AgNPs-EC) pe tulpini tip de *C. albicans* ATCC 10231, *C. auris* CBS 10913, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. guilliermondii* IP 1055, *C. krusei* ATCC 6258, *C. lusitaniae* RTCC 1120, *C. pelliculosa* RTCC 1029 și al izolatele clinice de fungi levuriformi a fost realizat prin metoda difuziunii cu agar. Metoda a presupus adăugarea AgNP-urilor testate la mediul de cultură preinoculat cu suspensie microbiană și măsurarea zonei clare cauzate de inhibarea creșterii după 24 de ore de incubare. În linii generale, pentru toate tipurile de AgNP-uri a fost demonstrată eficiența foarte ridicată în cazul majorității tulpinilor testate, efectul nefiind datorat solventului.

Rezultatele activității antifungice a AgNPs generate din polizaharide (derivați celulozici, pululan și 6-carboxipululan) au demonstrat rezultate promițătoare asupra fungilor, în special asupra levurilor. Astfel, conform datelor obținute, toate cele patru tipuri de nanoparticule de Ag noi (P<sub>Ag</sub>, PO<sub>Ag</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>), în limitele concentrațiilor testate, au manifestat efect antifungic față de anumite tulpini și la diferite concentrații aplicate.

Nanoparticulele PO<sub>Ag</sub> au manifestat acțiune antifungică față de tulpinile clinice testate. Pentru 91,0% (ÎÎ 95% 88,9-93,2) dintre acestea efectul minim de inhibiție a fost obținut la concentrația de 26,25 μg/ml, pentru celelalte 9,0% (ÎÎ 95% 6,9-11,2) de tulpini

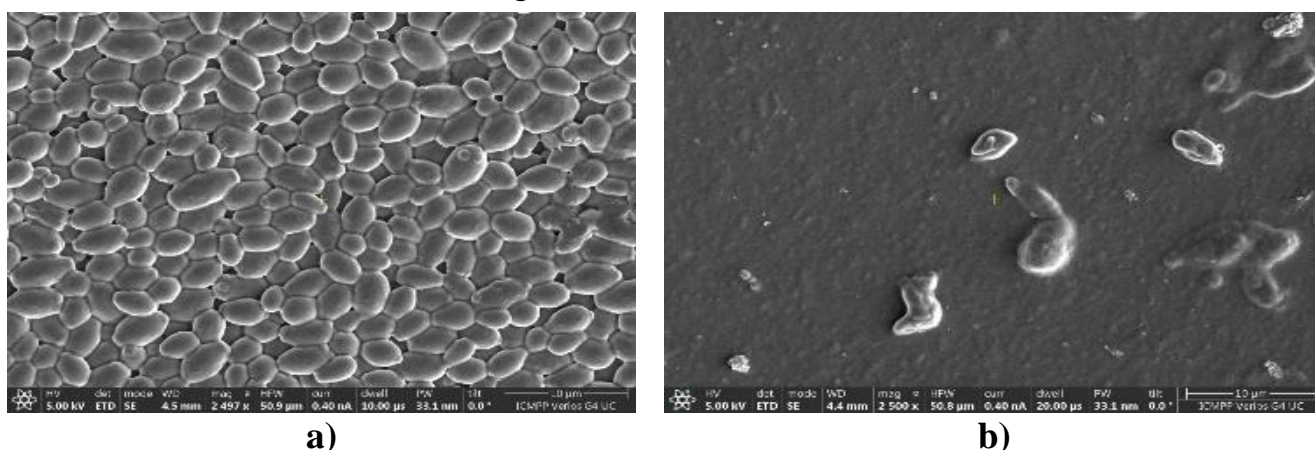


(cinci tulpini de *C. albicans* și câte o tulpină de *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. famata* și de *C. pulcherrima*) – la concentrația de 52,5 μg/ml.

În cazul nanoparticulelor C4, efectul antifungic a fost obținut la concentrații puțin mai ridicate. Cele mai active substanțe cu efect antifungic au fost nanoparticulele C5.

Cercetarea realizată demonstrează eficiența celor patru tipuri de nanoparticule de argint față de 18 specii de fungi patogeni, inclusiv dermatofiți. Pentru marea majoritate din cele 100 de tulpini testate, concentrațiile de nanoparticule care inhibă 100% creșterea fungilor este de până la 50 μg/ml, ceea ce permite a examina aceste nanomateriale în calitate de remedii alternative (ori adjuvante la terapiile existente) antifungice, în special de perspectivă în cazul tulpinilor rezistente la preparate antifungice.

Microscopia electronică de scanare (SEM) a fost utilizată pentru a pune în evidență modificările ultrastructurale ale celulelor fungice în prezența AgNP-urilor folosind derivați celulozici după 24 de ore de incubare. Evaluarea microscopică a fost realizată pe specia *C. albicans* ca control fără AgNPs unde s-a observat că celulele netratate au fost agregate, bine definite, cu o suprafață netedă a celulei, formă ovală și celule levurice care se multiplică prin burjeonare (Figura 5.3., a/b). În schimb, imaginile SEM ale celulelor de *C. albicans* tratate cu nanoparticulele de argint testate au indicat denaturarea peretelui celular și eliberarea matricei intracelulare (Figura 5.3, a/b).



**Fig. 5.3. Reprezentarea grafică al efectului AgNPs asupra *C. albicans* utilizând microscopia electronica [SEM]: a) *C. albicans* fără tratament, celulele sunt bine definite, cu suprafața netedă și formă ovală b) *C. albicans* după tratamentul cu AgNP se observă reducția și distorsiunea celulelor levurice prin eliberarea conținutului intracitoplasmatic**

### **5.3. Evaluarea proprietăților antifungice ale nanoparticulelor de Ag generate din pululan, din 6-carboxipululan comparativ cu cele pe bază de derivați celulozici**

În prezentul studiu s-au efectuat testări comparative pentru a evalua impactul nanoparticulelor de Ag stabilizate cu utilizarea polizaharidelor și anume cele generate din pululan cu cele obținute pe bază de derivați celulozici.

Avantajul nanoparticulelor de Ag stabilizate cu derivați celulozici este în prezentat de metodologia de obținere a acestora fiind una simplă și nu presupune utilizarea de agenți nocivi toxici și de factori fizici externi (temperatura, presiunea etc.) ci doar a materialelor ieftine și uzuale (celuloza este cel mai răspândit material organic biodegradabil).

Rezultatele testărilor și ale indicilor valorilor concentrației minime fungicidă a activității nanoparticulelor de Ag generate din pululan, comparativ cu cele ale AgNPs stabilizate cu derivați celulozici, au prezentat un efect antifungic ridicat față de toate speciile levurice luate în studiu și valori ale CMI mult mai mici și mai uniforme.

## 6. MODIFICAREA MARKERILOR STRESULUI OXIDATIV, SISTEMULUI ANTIOXIDANT ȘI A PATTERNULUI INFLAMATOR SUB INFLUENȚA COMPUȘILOR BIOLOGIC ACTIVI

### 6.1. Activitatea compușilor biologic activi asupra parametrilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant

Capitolul cuprinde descrierea modului privind rezultatele studiului axat pe acțiunea compușilor monocomponenți și policomponenți asupra intensității reacțiilor de oxidare cu radicali liberi în materialul biologic prin aprecierea unor indici ai stresului oxidativ și a sistemului antioxidant. Sunt prezentate rezultatele evaluării expresiei unor citokine pro- (IL-6, IL-1 $\beta$  și TNF- $\alpha$ ) și antiinflamatoare (IL-10) sub influența compușilor chimici și biologici testați, separat și în combinație.

Evaluarea intensității reacțiilor de oxidare cu radicali liberi în materialul biologic s-a realizat prin aprecierea unor indici importanți ai proceselor de peroxidare, cum ar fi nivelul dialdehidei malonice, produselor proteice de oxidare avansată, precum și a sistemului antioxidant: superoxid dismutaza, catalaza, activitatea antioxidantă totală, glutathion S-transferaza, glutathion peroxidaza, glutathion reductaza. Stresul oxidativ este un dezechilibru dintre speciile reactive de oxigen, numite și oxidanți (*ex.*, radicali liberi, metaboliți reactivi ș.a.) și antioxidanți, în avantajul oxidanților manifestat prin procese distructive ale celulelor și impact semnificativ asupra întregului organism.

### 6.2. Modificarea nivelului parametrilor citokinelor proinflamatoare și antiinflamatoare

Interacțiunea fungilor cu citokinele proinflamatorii declanșează răspuns inflamator. În lucrare s-a studiat expresia citokinelor pro- (IL-6, IL-1 $\beta$  și TNF- $\alpha$ ) și antiinflamatoare (IL-10) sub influența compușilor chimici, biologici testați, separat și în combinație.

Analiza măsurărilor efectuate pentru interleukinele de tip 1, (IL-1, pg/ml) a demonstrat valoarea maximală în lotul C1 (Mediana = 51,0, IQR = 1,35), valoarea minimă în lotul N2 (Mediana = 47,5, IQR = 1,58) (Figura 6.1.). Analiza măsurărilor efectuate pentru factorul de necroză tumorală (TNF- $\alpha$ , pg/ml) a arătat valoarea maximală în lotul C1 (Mediana = 102, IQR = 6,08), valoarea minimă în lotul N2 (Mediana = 78,6, IQR = 2,28) (Figura 6.2.).

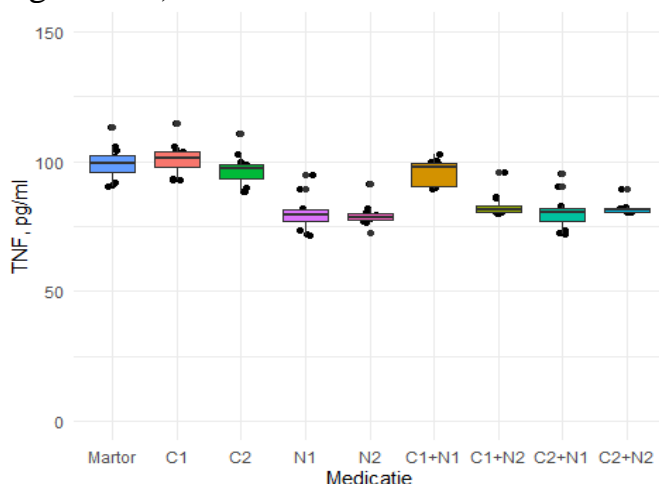


Fig. 6.1. Tendințele distribuirii valorilor TNF- $\alpha$ , pg/ml din loturile cercetate

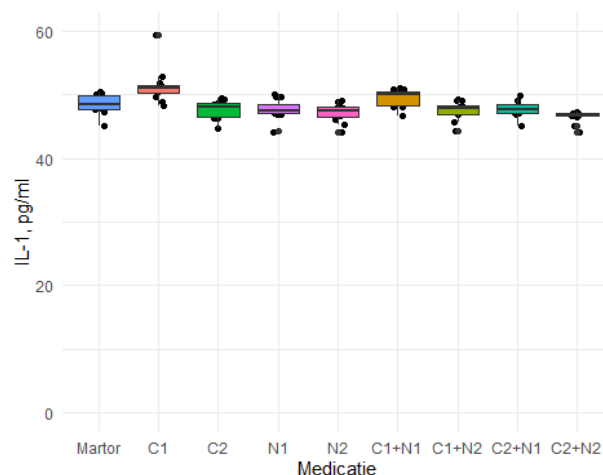
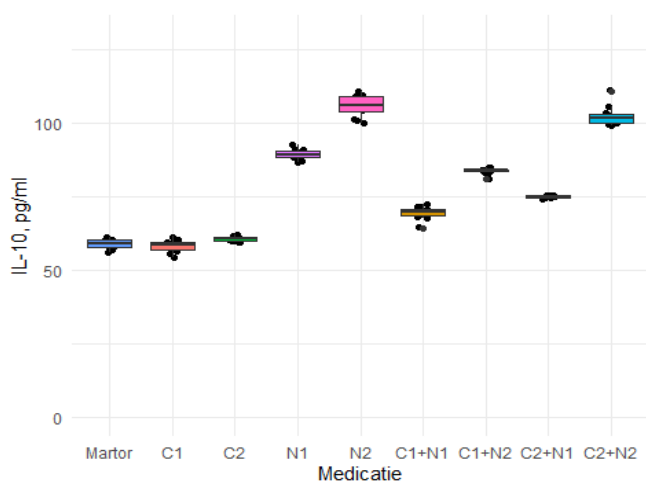
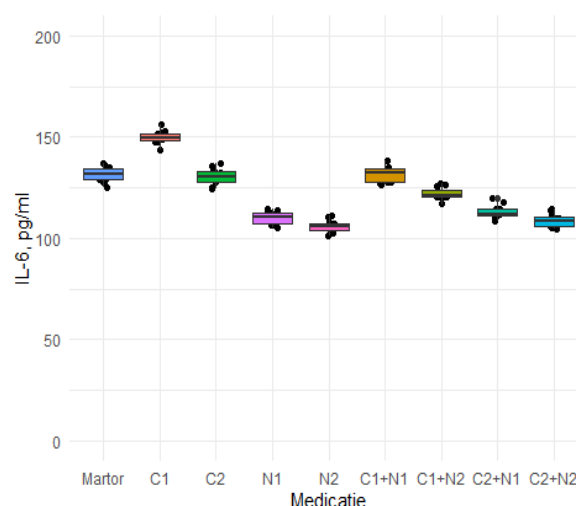


Fig. 6.2. Tendințele distribuirii valorilor IL-1, pg/ml din loturile cercetate



**Fig. 6.3. Tendințele distribuirii valorilor IL-10, pg/ml din loturile cercetate**



**Fig. 6.4. Tendințele distribuirii valorilor IL-6, pg/ml din loturile cercetate**




Analiza măsurărilor efectuate pentru interleukinele de tip 6, (IL-6, pg/ml) a demonstrat valoarea maximală în lotul C1 (Mediana = 150, IQR = 3,70), valoarea minimă în lotul N2 (Mediana = 106, IQR = 3,80) (Figura 6.3.). Analiza măsurărilor efectuate pentru interleukinele de tip 10, (IL-10, pg/ml) a arătat valoarea maximală în lotul N2 (Mediana = 106, IQR = 5,13), valoarea minimă în lotul C1 (Mediana = 58,4, IQR = 2,73) și lotul Martor (Mediana = 58,9, IQR = 2,45) (Figura 6.4.).

### **6.3. Analiza comparativă a parametrilor din loturile cercetate**

Evaluarea comparativă a loturilor cercetate a fost realizată prin testul Friedman iar analiza post hoc utilizând corecția Benjamini Hochberg. Evaluarea comparativă a datelor pentru DAM,  $\mu\text{M/L}$  din loturile cercetate a prezentat semnificație statistică (Friedman chi-square = 92,703, df = 8, p-value = 2.2e-16), ceea ce permite de a considera ipoteza alternativă (cel puțin două loturi din cele studiate diferă după valoarea DAM,  $\mu\text{M/L}$ ). Mărimea efectului medicației a fost estimată ca una crescută (Kendall W = 0,966). Analiza post-hoc a evidențiat diferențe statistic semnificative între lotul Martor și toate loturile cercetate, datele fiind prezentate în Tabelul 6.1. Evaluarea comparativă a datelor pentru PPOA,  $\mu\text{M/L}$  din loturile cercetate a prezentat semnificație statistică (Friedman chi-square = 71,057, df = 8, p-value = 3,027e-12), ceea ce permite de a considera ipoteza alternativă (cel puțin două loturi din cele studiate diferă după PPOA,  $\mu\text{M/L}$ ). Astfel, a fost efectuată evaluarea comparativă a datelor pentru DAM, PPOA, SOD, Catalaza, AAT cu ABTS, G-S-T, GPO, GR, IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10. Pentru a evalua influența extractului de *S. platensis* (ES), extractului carotenoidic conținut de mixoxantofilă și compușii chimici C1 (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>BrCuN<sub>4</sub>S) și C2 (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S;), precum și combinarea acestora asupra markerilor stresului oxidativ, sistemului antioxidant și pattern-ului inflamator, a fost utilizată analiza heatmap. Aceasta metodă a permis reprezentarea grafică a datelor obținute în care valorile au fost redată cromatic, astfel facilitând prezentarea simplificată a datelor complexe și, în final, înțelegerea acestora dintr-o sigură privire (Tabelul 6.1.).

**Tabelul 6.1. Heatmap pentru sinteza evaluării comparative parametrilor cercetați cu lotul martor pentru substanțele precum și combinarea acestora**

Loturile	C1	C1+ N1	C1+ N2	C2	C2+N 1	C2+N 2	N1	N2
Martor, DAM, μM/L	0,0031	0,006 4	0,003 1	0,0054	0,0031	0,0031	0,0031	0,003 1
Martor, PPOA, μM/L	0,0018	0,005 7	0,061 5	0,0018	0,0018	0,0069	0,0057	0,061 5
Martor, SOD, u/c	0,0012	0,000 6	0,000 6	0,0006 3	0,0006 3	0,0006 3	0,0006 3	0,002 7
Martor, Catalaza, μM/L	0,0027	0,001 0	0,002 7	0,0041	0,0010	0,0010	0,0010	0,002 7
Martor, AAT cu ABTS, μM/L	0,0009	0,012 9	0,000 9	0,0009 3	0,0594 8	0,0033 6	0,0009 3	0,000 9
Martor, G-S-T, nM/s. L	0,0236	0,092 2	0,004 5	0,0045	0,8501	0,0045	0,0045	0,004 5
Martor, GPO, nM/s. L	0,0081	0,000 7	0,000 7	0,0959 9	0,0007 6	0,0032 4	0,0032 4	0,000 7
Martor, GR, nM/s. L	0,0006	0,001 8	0,000 6	0,0026 6	0,0006 3	0,0026 6	0,0006 3	0,000 6
Martor, IL-1β, pg/ml	0,0045	0,005 8	0,004 5	0,0058	0,0058	0,0045	0,0045	0,004 5
Martor, TNF-α, pg/ml	0,0035	0,003 5	0,001 4	0,0014	0,0014	0,0014	0,0035	0,003 5
Martor, IL-6, pg/ml	0,0008	0,622 1	0,000 8	0,0031	0,0008	0,0008	0,0008	0,000 8
Martor, IL-10, pg/ml	0,0544	0,000 7	0,000 7	0,0027 5	0,0007 3	0,0007 3	0,0007 3	0,000 7

 diferența statistic semnificativă, valoarea din lotul martor fiind mai mică  
 diferența statistic semnificativă, valoarea din lotul martor fiind mai mare  
 diferența statistic nesemnificativă

Notă: N1 – extract de *S. platensis* (ES); N2 – pigment carotenoidic mixoxantofila (MX); C1 - compusul chimic C19H21BrCuN4S; C2 - compusul chimic C17H19CuN5O3S; DAM – dialdehida malonică, PPOA – produse proteice de oxidare avansată, SOD – superoxid dismutaza, AAT – activitatea antioxidantă totală, GST – glutation S-transferaza, GPO – glutation peroxidaza, GR – glutation reductaza, IL – interleukina, TNF – factorul de necroză tumorală.

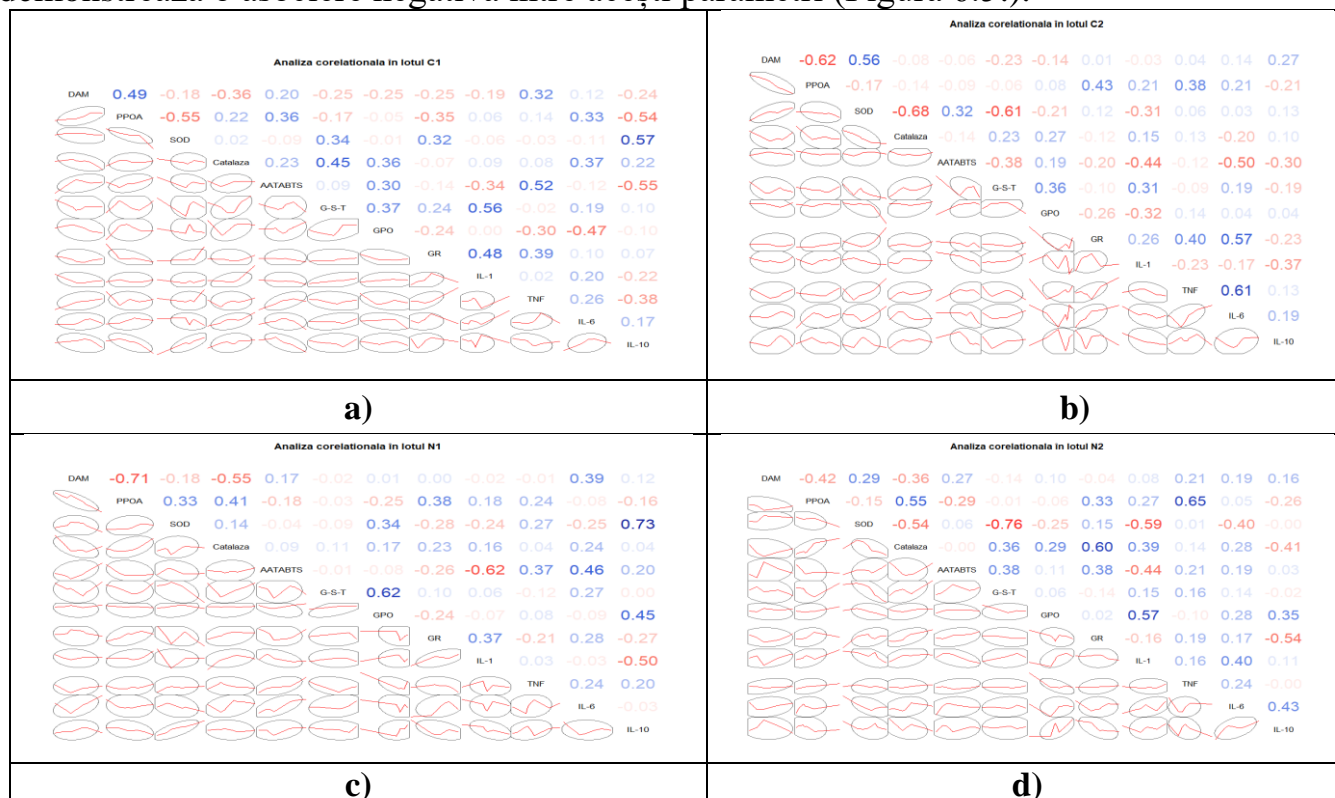
#### 6.4. Analiza corelațională în cadrul loturilor cercetate

În cadrul loturilor cercetate a fost utilizat coeficientul de corelație al ordinului (testul  $\rho$  Spearman) pentru a putea observa dacă există sau nu o corelație între parametri incluși în cercetare. Astfel, în baza efectuării acestei analize s-a demonstrat, că unii parametri au corelat pozitiv, iar între alți parametri nu s-a determinat nici o corelație.

Astfel, analiza corelațională în loturi pentru variabilele cercetate a evidențiat următoarele rezultate: în lotul C1 valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între SOD și IL-10 (0,57), ceea ce demonstrează o asociere pozitivă între acești parametri; în lotul C2 valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între SOD și catalaza (-0,68), ceea ce demonstrează o asociere negativă între acești parametri; în lotul N1 valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între SOD și IL-10 (0,73), ceea ce demonstrează o asociere pozitivă între acești parametri; în lotul N2 valoarea



absolută maximală a coeficientului a fost determinată între SOD și G-S-T (-0,76), ceea ce demonstrează o asociere negativă între acești parametri (Figura 6.5.).



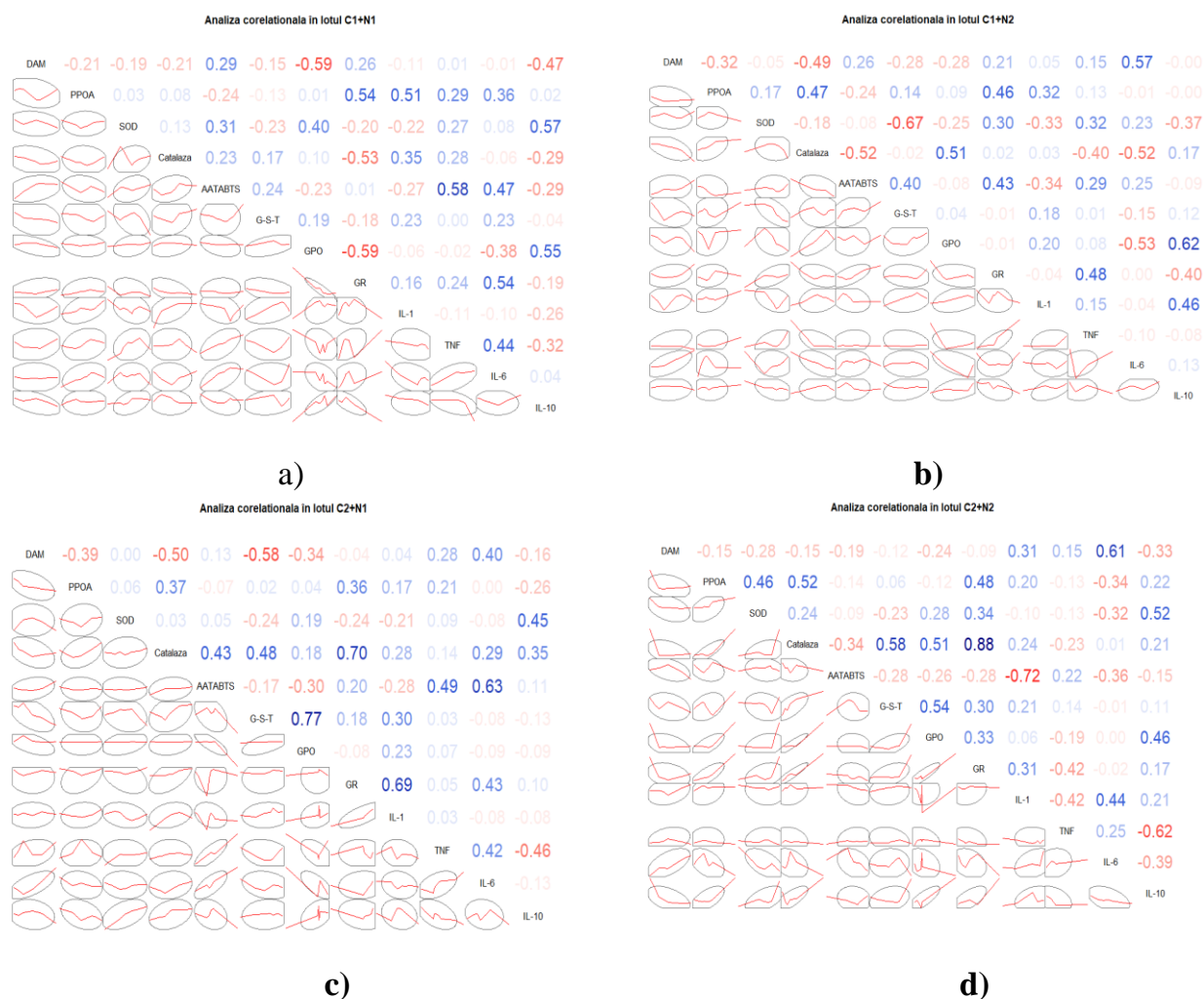
**Fig. 6.5. Analiza corelațională în cadrul loturilor cercetate: a) C1; b) C2; c) N1; d) N2**

Aceste valori în lotul C1 au fost urmate de asocierea între G-S-T și IL-1 (0,56), SOD și valoarea PPOA (-0,55), AATABTS și valoarea PPOA (-0,55), TNF și AATABTS (0,52), în lotul C2 de asocierea între DAM și PPOA (-0,62), SOD și G-S-T (-0,61), TNF și IL-6 (0,61), GR și IL-6 (0,57), SOD și valoarea DAM (0,56), AATABTS și IL-6 (-0,5), în lotul N1 de asocierea între DAM și PPOA (-0,71), GPO și G-S-T (0,62), AATABTS și IL-6 (-0,62), Catalaza și valoarea DAM (-0,55), IL-1 și IL-10 (-0,5), în lotul N2 de asocierea între TNF și PPOA (0,65), Catalaza și GR (0,6), SOD și IL-1 (-0,59), GPO și IL-1 (0,57), valoarea Catalazei și PPOA (0,55), valorile SOD și Catalaza precum și GR și IL-10 fiind asociate la fel (-0,54) ceilalți coeficienți fiind mai mici de 0,5, totalitatea indicatorilor având și baza logică în afară de legătura matematică.

Analiza corelațională (testul  $\rho$  Spearman) în loturi pentru variabilele cercetate a evidențiat următoarele rezultate: în lotul C1+N1 valoarea absolută maximală a coeficientului s-a determinat între DAM/GPO și GPO-GR (-0,59), ceea ce demonstrează o asociere negativă între parametri în ambele cazuri; în lotul C1+N2 valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între SOD și G-S-T (-0,67), ceea ce demonstrează o asociere negativă între parametrii prezentați; în lotul C2+N1; valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între GPO și G-S-T (0,77), ceea ce demonstrează o asociere pozitivă între parametrii prezentați; în lotul C2+N2; valoarea absolută maximală a coeficientului a fost determinată între aceste valori în lotul C1+N1 au fost urmate de asocierea între TNF și AATABTS (0,58), SOD și IL-10 (0,57), GPO și IL-10 (0,55), GR-PPOA și GR-IL-6 (0,54), GR și PPOA (-0,53), PPOA și IL-1 (0,51); C1+N2 de asocierea între GPO și IL-10 (0,62), DAM și IL-6 (0,57), GPO și IL-6 (-0,53), valoarea Catalazei cu AATABTS și valoarea Catalazei cu IL-6 (-0,52), GPO și Catalaza (0,51);

C2+N1 de asocierea între Catalaza și GR (0,70), GR și IL-1 (0,69), IL-6 și AATABTS (0,63), DAM și GST (-0,58), DAM și valoarea Catalazei (-0,5); C2+N2 de asocierea între IL-1 și AATABTS (-0,72), TNF și IL-10 (-0,62), DAM și IL-6 (0,61).

Astfel, compusul bromo{N-ciclohexil-N'-[fenil(piridin-2-il)metiliden] carbamo hidrazono-tioat}cupru (C1) și compusul nitrato{N-tert-butil-N'-[fenil(piridin-2-il) metiliden]carbamohidrazono-tioat}cupru (C2) prezintă efecte negative; extractul de *S. platensis* (N1) prezintă, incontestabil, efecte pozitive; extractul carotenoid cu conținut de mixoxantofilă (N2) a demonstrat efecte similare cu extractul de *S. platensis* (N1), cu excepția modificărilor ne semnificative pentru PPOA. Efectele pozitive ale combinațiilor, mai ales asupra sistemului antiinflamator și a sistemului DAM – PPOA, sunt determinate de extractul de *S. platensis* (N1) și de extractul carotenoid cu conținut de mixoxantofilă. Reieșind din rezultatele cercetării din cadrul acestui studiu, extractul de *S. platensis* (N1) și extractul carotenoid cu conținut de mixoxantofilă, având caracteristici optime privind efectele asupra sistemelor cercetate, prezintă un potențial efect antifungic fapt ce argumentează necesitatea continuării cercetărilor *in vivo*.



**Fig. 6.6. Analiza corelațională în cadrul loturilor cercetate: a) C1+N1; b) C1+N2; c) C2+N1; d) C2+N2**

Catalaza și GR (0,88), ceea ce demonstrează o asociere pozitivă între acești parametri (Figura 6.6.). Catalaza și G-S-T (0,58), G-S-T și GPO (0,54), PPOA și Catalaza precum și SOD și IL-10, având asociația pozitivă (0,52 în ambele cazuri), Catalaza și GPO (0,51), totalitatea indicatorilor având și baza logică în afară de legătura matematică.

## CONCLUZII GENERALE:

1. *Candida albicans* a fost cel mai frecvent agent fungic izolat din biosubstraturile umane în cadrul acestui studiu (61,5%), iar dintre speciile de *Candida non-albicans* (NAC), care au constituit o parte substanțială din tulpinile clinice izolate (38,5%), a prevalat *Candida glabrata* (56,8%,) urmată de *Candida krusei* (31,8%), *Candida parapsilosis* (5,3%) și *Candida tropicalis* (2,4%). Repartizarea speciilor de *Candida* în funcție de speciile biologice este neuniformă. Astfel, unele specii au fost recuperate din toate speciile clinice (*C. albicans* și *C. glabrata*), în timp ce altele doar în unele (ex., *C. dublinensis*, *C. norvegensis* în prelevatele din căile respiratorii). Distribuția speciilor de *Candida non-albicans* în raport cu proba clinică nu a variat semnificativ, acestea prevalând în probele de urină (20,8%), urmate de cele de spută/aspirat bronșic (14,7%). Îmbucurător este faptul, că izolatele clinice nu atestă îndici majorați de rezistență la antifungice.
2. Rezultatele cercetărilor factorilor de patogenitate ai tulpinilor de levuri nu au demonstrat diferențe evidente a expresiei acestora în funcție de biosubstrat și de specia testată. Totodată, s-a atestat o exprimare puțin mai înaltă a enzimelor la *C. albicans*, comparativ cu *Candida non-albicans*, ceea ce permite supraviețuirea și implicarea acestor specii în invazie, evitarea răspunsului imun al gazdei și dezvoltarea formelor mai severe de IFI, drept consecință persistența și dificultăți de eradicare a infecției. La *Candida non-albicans* s-au observat unele diferențe în gradul de expresie a factorilor de patogenitate. Astfel, *C. tropicalis* a prezentat cel mai frecvent activitate esterazică, *C. glabrata* și *C. krusei* – activitate hemolizinică și capacitate de inactivare a activității lizozimului.
3. Activitate antifungică înaltă față de fungii levuriformi cercetați au prezentat cinci compuși chimici noi ai cuprului cu tiosemicarbazone, cu aldehide și cu cetone. Acești compuși prezintă interes în calitate de potențiali candidați pentru dezvoltarea de preparate antifungice cu efecte direcționate asupra fungilor levuriformi. Preparatele carotenoide cu conținut de mixoxantofilă au prezentat activitate antifungică mai pronunțată, comparabilă cu cea a celor cinci compuși chimici enumerați mai sus. Întrucât susceptibilitatea tulpinilor de referință s-a dovedit a fi apropiată de cea a tulpinilor clinice, rezultatele obținute în cadrul testelor primare pe culturi de referință, prin care se studiază compușii chimici tiosemicarbazonați cu conținut de cupru, pot fi extrapolate, cu un nivel foarte înalt de probabilitate, și asupra tulpinilor clinice.
4. Activitatea antifungică a combinațiilor dintre compușii chimici și cei biologici se bazează pe interacțiunea preponderent sinergică dintre acestea, dovedită prin aplicarea modelului indicelui de concentrație al inhibiției factoriale. Compușii chimici și biologici aplicați fiecare în parte, cât și combinație, au avut efecte performante de inhibare a factorilor de patogenitate manifestați de speciile *C. albicans* și *C. tropicalis*, provocând diminuarea semnificativă a activității exoenzimelor de patogenitate, blocând capacitatea de formare a biofilmelor, inhibând total ori parțial activitatea antilizozim și anticomplementară a fungilor patogeni. Combinațiile dintre preparatele biologice și compușii chimici sunt mai eficiente în raport cu factorii de patogenitate decât compușii aplicați individual. Efectele sinergice, generate între principiile active constituențe, au determinat creșterea capacității de inhibare a dezvoltării agenților fungici.
5. Nanoparticulele de argint stabilizate cu derivați naturali, precum pululanul și derivații celulozici, au demonstrat acțiune inhibitorie atât asupra tulpinilor de referință, cât și

asupra fungilor izolați din biosubstraturile clinice. Activitatea antifungică s-a dovedit a fi relativ uniformă împotriva tuturor tulpinilor testate la un nivel relativ de concentrații apropiate. Sistemele pe bază de derivați naturali de noua generație au ca scop depășirea inconvenientelor anterioare legate de încorporarea și toxicitatea AgNPs, iar activitatea antifungică înaltă a AgNPs *in vitro*, demonstrată în prezentul studiu, necesită investigații suplimentare *in vivo*, precum standardizarea și stabilizarea, și cercetări toxicologice corespunzătoare pentru a le face aplicabile ca preparate antifungice.

6. Efectele pozitive în cadrul combinațiilor, mai ales asupra sistemului antiinflamator și a sistemului DAM – PPOA, sunt determinate de extractele N1 și N2, caracteristici optime având combinația C2+N2. Pe de altă parte, efectul așteptat de potențare a fost slab exprimat. Acest fapt poate fi observat prin analiza evoluției indicatorilor studiați în lotul N2 și lotul C2+N2 (complet din punct de vedere al efectelor așteptate). Conform rezultatelor cercetărilor efectuate în acest studiu, compușii N1 și N2 prezintă caracteristici optime privind efectele asupra sistemelor cercetate, potențial efect antifungic, ceea ce argumentează necesitatea continuării cercetărilor *in vivo* în vederea confirmării acestor date. Fără aceste cercetări nu se pot trage concluzii definitive privind efectul cantitativ al compușilor studiați, ceea ce constituie una dintre limitările cercetării efectuate. Totodată, rezultatele obținute oferă noi perspective de cercetare a acțiunii compușilor studiați în diverse afecțiuni caracterizate prin perturbarea funcțiilor sistemului de protecție antioxidantă.
7. În raport cu obiectivul privind evaluarea modificărilor unor parametri biochimici ai izolatelor fungice sub influența compușilor monocomponenți și în combinație se poate menționa că extractele de spirulină nu au efect toxic direct asupra fungilor studiați, iar compușii chimici studiați și aplicați în concentrații minim inhibitorii produc efecte toxice pronunțate asupra izolatelor fungice analizate. Acțiunea combinată a compușilor asupra parametrilor investigați demonstrează eficacitatea lor în calitate de potențiali agenți antifungici, în condițiile în care concentrațiile compușilor chimici sunt de 2-4 ori mai mici comparativ cu cele aplicate în cazul utilizării lor separate. Compușii chimici și cei naturali acționează sinergic, prin mecanisme neevidențiate în cadrul acestui studiu, dar care le oferă perspective mari în calitate de agenți antifungici cu grad redus de toxicitate și potențial scăzut de formare a rezistenței.
8. În contextul influenței compușilor biologic activi asupra parametrilor fiziologici *in vitro* se atestă efecte pozitive ale acestora asupra tuturor parametrilor studiați, manifestate prin micșorarea valorii indicilor stresului oxidativ, sistemului proinflamator și creșterea potențialului antioxidant și antiinflamator, în timp ce compușii chimici au prezentat efecte negative, determinând valori crescute pentru indicii stresului oxidativ și componentele sistemului proinflamator, favorizând sistemele antioxidant și antiinflamator. În cazul compușilor combinați s-au observat efecte pozitive, în special asupra sistemului antiinflamator și a indicilor stresului oxidativ.

## RECOMANDĂRI

Pe baza rezultatelor obținute în cadrul acestei cercetări au fost elaborate unele recomandări pentru aplicare în practică:

1. Crearea unui sistem național de supraveghere și control a infecțiilor fungice și consolidarea capacităților de diagnostic de laborator în domeniul micologiei medicale.
2. Implementarea în practica laboratoarelor medicale a testelor rapide de identificare cu specificitate, sensibilitate înaltă de evidențiere a expresiei factorilor de patogenitate ai fungilor, determinarea susceptibilității la antifungice și a mecanismelor de rezistență.
3. Elaborarea ghidurilor, procedurilor, protocoalelor clinice naționale și organizarea instruirii specialiștilor implicați în supravegherea și controlul infecțiilor fungice.
4. Propunerea spre utilizare a tehnologiilor de combinare a preparatelor biologice, compușilor chimici și a nanoparticulelor de Ag stabilizate cu derivați naturali în vederea elaborării a medicamentelor policomponente eficiente în terapia infecțiilor fungice.

### *Direcții și sugestii de cercetare de perspectivă*

Rezultatele studiului realizat pot fi utilizate pentru continuarea cercetărilor direcționate spre dezvoltarea unor metodologii de diagnostic rapid al infecțiilor fungice, al preparatelor farmaceutice originale eficiente asupra fungilor filamentoși în calitate de terapii alternative cu toxicitate redusă asupra organismului.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BROWN, G.D., DENNING, D.W., LEVITZ, S.M. Tackling human fungal infections. In: *Science*. 2012, nr. 336, pp. 647. ISSN 1095-9203.
2. BURDUNIUC, O., CEBAN, E., BĂLAN, G. et al. *Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar (Ghid)*. Chișinău: Tipografia Î.S. F.E.P. „Tipografia Centrală”. 2021, 64p. ISBN 978-9975-3415-9-2.
3. BURDUNIUC, O., CEBAN, E., BĂLAN, G., PLĂCINTĂ, Gh. et al. *Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar (Ghid)*. Chișinău: Tipografia Î.S. F.E.P. „Tipografia Centrală”. 2021, 64p. ISBN 978-9975-3415-9-2.
4. ENOCH, D.A. et al. The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections. In: *Methods in Molecular Biology*. 2017, nr. 1508, pp. 17–65. ISSN 1064-3745.
5. FRIEDMAN, D.Z.P., SCHWARTZ, I.S. Emerging Fungal Infections: New Patients, New Patterns, New Pathogens. In: *Journal of Fungi*. 2019, nr. 5(3), pp. 67. ISSN 2309-608X.
6. GARCIA-BUSTOS, V., RUIZ-SAURI, A., RUIZ-GAITÁN, A., et al. Characterization of the Differential Pathogenicity of *Candida auris* in a *Galleria mellonella* Infection Model. In: *Microbiology spectrum*. 2021, nr. 9, pp. e0001321. ISSN 2165-0497.
7. GORINCIOI, V., LOZAN, V., BURDUNIUC, O., BĂLAN G. *Utilizarea tetrasalicilatului de bariu-cupru în calitate de inhibitor al proliferării fungilor *Cryptococcus neoformans**. Brevet de invenție MD 4712 B1 2020.09.30. BOPI nr. 9/2020 din 30.09.2020.
8. GOW, N.A., VAN DE VEERDONK, F.L., BROWN, A.J., NETEA, M.G. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: Discriminating invasion from colonization. In: *Nature Review Microbiology*. 2011, nr. 10, pp. 112–122. ISSN 1740-1534.
9. HAWKSWORTH, D. L., LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. In: *Microbiology Spectrum*. 2017, nr. 5(4), pp. 5.4.10. ISSN 2165-0497.
10. HOENIGL, M. et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human & Animal Mycology and the American Society for Microbiology. In: *The Lancet Infectious Diseases*. 2021, nr. 21, pp. e246–257. ISSN 1473-3099.
11. KIM, J.Y. Human fungal pathogens: Why should we learn? In: *Journal of Microbiology*. 2016, nr. 54(3), pp. 145–148. ISSN 1976-3794.
12. KULLBERG, B.J., ARENDRUP, M.C. Invasive Candidiasis. In: *New England Journal of Medicine*. 2015, nr. 373, pp. 1445–1456. ISSN 1533-4406.
13. LOCKHART, S.R., GUARNER, J. Emerging and reemerging fungal infections. In: *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2019, nr. 36(3), pp. 177–181. ISSN 0740-2570.
14. MAHMOUDI, S., BADALI, H., REZAIE, S. et al. A simple and low-cost tetra-primer ARMS-PCR method for detection triazole-resistant *Aspergillus fumigatus*. In: *Molecular Biology Reports*. 2019, nr. 46(4), pp. 4537–4543. ISSN 1573-4978.
15. MALCOK, H.K. et al. Hemolytic activities of the *Candida* species in liquid medium. In: *The Eurasian Journal of Medicine*. 2009, nr. 41(2), pp. 95–98. ISSN 1308-8742.
16. NOORI, M., DAKHILI, M. et al. Evaluation of esterase and hemolysin activities of different *Candida* species isolated from vulvovaginitis cases in Lorestan Province, Iran. In: *Current Medical Mycology*. 2017, nr. 3(4), pp. 1–5. ISSN 2423-3420.
17. PRISACARI, V., BERDEU, I. et al. Rezultatele studiului de evaluare a antibioticorezistenței microbiene în condițiile R. Moldova. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2016, nr. 2(51), pp. 53-68. ISSN 1857-0011.

## LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

### 1. Monografii:

#### 1.1. monografii monoautor

1.1.1. BURDUNIUC, O. *Fungii patogeni și rezistența la antimicotice*. Chișinău: Tipografia „Print-Caro”, 2018. 274 p. ISBN 978-9975-56-538-7.

#### 1.2. capitole în monografie colectivă

1.2.1. CROITORU, C., BURDUNIUC, O. *Generalități despre abordarea One Health*. In: CROITORU, C. ș.a. *Aspecte medicale ale schimbărilor climatice: realități și perspective*. Chișinău: Tipografia „Print-Caro”, 2022, pp. 68-74. ISBN 978-9975-165-63-1

1.2.2. BURDUNIUC, O., BALAN, G. *Schimbările climatice și infecțiile fungice*. In: CROITORU, C. ș.a. *Aspecte medicale ale schimbărilor climatice: realități și perspective*. Chișinău: Tipografia „Print-Caro”, 2022, pp. 104-119. ISBN 978-9975-165-63-1.

### 2. Articole în reviste științifice

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

2.1.1. GULEA, A. et al. Synthesis, Structure, and Biological Activity of Copper and Cobalt Coordination Compounds with Substituted 2-(2-Hydroxybenzylidene)-N-(prop-2-en-1-yl) hydrazinecarbothioamides. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2019, 89(5), pp. 953-964. ISSN 1070-3632. <https://doi.org/10.1134/S1070363219050153> (IF: 0,761).

2.1.2. GULEA, A. et al. Synthesis, Structure, and Biological Activity of Coordination Compounds of Cobalt (II), Nickel (II), and Copper (II) with N-(Methoxyphenyl)-2-[(5-nitrofuryl) methylene] hydrazine Carbothioamides. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2019, 89(7), pp. 1415-1423. ISSN 1070-3632. <https://doi.org/10.1134/S1070363219070119> (IF: 0,761).

2.1.3. BALAN, G. et al. Novel 2-formylpyridine 4-allyl-Smethylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity. In: *Applied Organometallic Chemistry*. 2019, 34, pp. 34-35. ISSN 1099-0739. <https://doi.org/10.1002/aoc.5423> (IF: 4,105).

2.1.4. GULEA, A. et al. Synthesis, Structure and Biological Activity of Coordination Compounds of Copper, Nickel, Cobalt, and Iron with Ethyl N'-(2-Hydroxybenzylidene)-N-prop-2-en-1-ylcarbamohydrazonothioate. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2020, 90(4), pp. 630-639. ISSN 1070-3632. <https://doi.org/10.1134/S107036322004012X> (IF: 0,767).

2.1.5. GULEA, A. et al. Synthesis, Structure, and Biological Activity of Copper(II), Nickel(II), Cobalt(III), and Iron(III) Coordination Compounds with propanoic Acid. In: *Russian Journal of General Chemistry*. 2020, 90(11), pp. 2120-2127. ISSN 1070-3632. <https://doi.org/10.1134/S107036322011016X> (IF: 0,767).

2.1.6. BURDUNIUC, O. et al. Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Silver Nanoparticles Embedded in Pullulan Matrices. In: *Materials*. (Basel). 2021, 14(22), p. 7041. ISSN 1996-1944. <https://doi.org/10.3390/ma14227041> (IF: 3,623).

2.1.7. ULCHINA, I. Introducing N-Heteroaromatic Bases into Copper (II) Thiosemicarbazone Complexes: A Way to Change their Biological Activity. In: *ChemistryOpen*. 2022, 11(12). ISSN 2191-1363. <https://doi.org/10.1002/open.202200208> (IF: 2,911).

2.1.8. MUNK, P. et al. Genomic analysis of sewage from 101 countries reveals global landscape of antimicrobial resistance. In: *Nature Communications*. 2022, 13, p. 7251. ISSN 2041-1723. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34312-7> (IF: 17.694).

2.1.9. BILIUȚA, G. et al. Antibacterial and Antifungal Silver Nanoparticles with Tunable Size Embedded in Various Cellulose-Based Matrices. In: *Molecules*. 2022, 27, p. 6680. ISSN 1420-3049. <https://doi.org/10.3390/molecules27196680> (IF: 4.927).

#### 2.2. în reviste din străinătate recunoscute

2.2.1. BURDUNIUC, O. et al. *In vitro* evaluation of antimicrobial and biofilm inhibitory activity of *Spirulina platensis* extracts. В: *Здоров'я суспільства*. 2020, том 9, № 3, с. 118-123. ISSN 2306-2436. <https://doi.org/10.22141/2306-2436.9.3.2020.219242>



2.2.2. BALAN, G., BURDUNIUC, O. Antibiotic resistance and biofilm formation of *S. aureus* and *C. albicans* strains isolated from trophic ulcers. В: *Международный научный журнал „Научные горизонты”*. 2020, 9(37), с. 110-118. ISSN 2587-618X. [http://www.sciencehorizon.ru/wp-content/uploads/2017/08/Nauchnyie\\_vesti\\_9\\_37\\_2020.pdf#page=111](http://www.sciencehorizon.ru/wp-content/uploads/2017/08/Nauchnyie_vesti_9_37_2020.pdf#page=111)

2.2.3. BURDUNIUC, O., HAMZA, H. A. Biological risks and laboratory-acquired infections. В: *Международный научный журнал „Научные горизонты”*. 2020, 10(38), с. 117-139. ISSN 2587-618X. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2657-1>

2.2.4. BURDUNIUC, O. et al. Analysis of candida species distribution isolated from women with vulvovaginal candidiasis and their antifungal susceptibility profile. In: *Health of Society*. 2020, 9(5), pp. 225-228. ISSN 2306-2436. <https://doi.org/10.22141/2306-2436.9.6.2020.226952>

2.2.5. FLOREA, N.P. et al. Microbiological diagnosis of *Aspergillus* spp. based on the central „Synevo” laboratory from Chisinau during 2015-2019. In: *MEDICUS International medical scientific journal*. 2021, 1(37), pp. 23-26. ISSN 2409-563X. [http://scimedicus.ru/f/medicus\\_no\\_1\\_37\\_january.pdf](http://scimedicus.ru/f/medicus_no_1_37_january.pdf)

### **2.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei: - categoria B**

2.3.1. BURDUNIUC, O., BĂLAN, G. Conștientizarea populației privind consumul de antimicrobiene în Republica Moldova. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2015, 3(60), pp. 160-163. ISSN 1729-8687. CZU: [614.35:615.33\(478\)](https://doi.org/10.1007/s10096-016-2657-1)

2.3.2. BURDUNIUC, O., BALAN, G., RÎMIȘ, C. Evaluarea riscului profesional la lucrătorii laboratoarelor Microbiologice. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2016, 3(67), pp. 87-90. ISSN 1729-8687. CZU: [613.6:576.8.095](https://doi.org/10.1007/s10096-016-2657-1)

2.3.3. BUNESCU, I., HOLBAN, T., BURDUNIUC, O. Particularitățile etiologice și clinice ale cazurilor de septicemie la pacienții spitalizați la spitalul clinic de boli infecțioase „Toma Ciorbă”. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2017, 1(53), pp. 47-50. ISSN 1857-0011. <https://bulmed.md/bulmed/article/view/2677>

2.3.4. BURDUNIUC, O. Factorii de virulență a fungilor patogeni: semnificația clinică și detectarea fenotipică. În: *Studia Universitatis. Științe Reale și ale Naturii*. 2018, 6(116), pp. 3-13. ISSN 1814-3237. CZU: [616:616-022.6](https://doi.org/10.1007/s10096-016-2657-1)

2.3.5. RUSNAC, R. ș.a. Sinteza unor derivați ai 1,2,4-triazolului în baza N-[4-(3-metil-5-sulfanil-4H-1,2,4-triazol-4-il)fenil]acetamidei. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Științe Reale ale Naturii*. 2018, 1(111), pp.133-143. ISSN 1814-3237. CZU: [547.792.2](https://doi.org/10.1007/s10096-016-2657-1)

2.3.6. BURDUNIUC, O. et al. The importance of blood cultures in the effective management of bloodstream infections. In: *The Moldovan Medical Journal*. 2019, 3(62), pp. 28-37. ISSN 2537-6373. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/7003>

2.3.7. BURDUNIUC, O. Actualități în diagnosticul infecțiilor fungice invazive. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2019, 2(80), pp. 54-60. ISSN 1729-8687. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/7627>

2.3.8. BALAN, G., BURDUNIUC, O. Antimicrobial susceptibility and biofilm production among *Staphylococcus* and *Candida* species. In: *The Moldovan Medical Journal*. 2020, 63(1), pp. 3-7. ISSN 2537-6373. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/9824>

2.3.9. RUSNAC, R. et al. Sinteza și proprietățile antibacteriene și antifungice ale compușilor coordinați ai Fe(III) Cu 4-ciclohexiltiosemicarbazona 4-benzoil-3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-onă. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Științe Reale și ale Naturii*. 2020, 1(131), pp. 32-37. ISSN 1814-3237. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3953814>

2.3.10. BEHTA, E. et al. Antimicrobial discovery – impact of the natural sources. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Științe Reale și ale Naturii*. Chișinău. 2020, 6(136), pp. 39-48. ISSN 1814-3237.

[http://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/18865/Studia\\_Universitatis\\_Moldaviae\\_sSRN\\_2020\\_N6\\_p39\\_48.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/18865/Studia_Universitatis_Moldaviae_sSRN_2020_N6_p39_48.pdf?sequence=1&isAllowed=y)



2.3.11. BURDUNIUC, O. Biofilmele fungice – provocare actuală la nivel mondial. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Științe Reale și ale Naturii*. 2020, 1(131), pp. 100-110. ISSN 1814-3237. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3953988>

2.3.12. BURDUNIUC, O. ș.a. Distribuția speciilor clinice de *Candida* și sensibilitatea acestora la antifungice. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2020, 5(87), pp. 31-36. ISSN 1729-8687. CZU: [615.282.015.8:582.282.23](https://doi.org/10.5281/zenodo.5636857)

2.3.13. BUCOV, V. ș.a. Unele aspecte ale rezistenței fungilor la tratamentul antimicrobian. Sinteza literaturii. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2020, 3(85), pp. 41-47. ISSN 1729-8687. CZU: [615.281/.282.015.8+616.992.282](https://doi.org/10.5281/zenodo.5636857)

2.3.14. BURDUNIUC, O. Antifungal susceptibility patterns and virulence factors of clinical *Candida* spp. isolates. În: *Arta Medica*. 2021, 2(79), pp. 4-9. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5636857>

### **3. Articole în lucrările conferințelor și altor manifestări științifice**

#### **3.1. naționale cu participare internațională**

3.1.1. BALAN, G. et al. Synergistic Action of Some Chemical and Biological Compounds. În: *Materialele Conferinței științifice naționale cu participare internațională „Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică”*. Chișinău, 2021, pp. 314-325. ISBN 978-9975-89-216-2.

### **4. Teze în culegeri științifice**

#### **4.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)**

4.1.1. BURDUNIUC, O., MARES, M., DENNING, D.W. Burden of Serious Fungal Diseases in Republic of Moldova. In: *Medical Mycology*. 2018, 56, p. 104. ISSN 1460-2709. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy047>

4.1.2. BĂLAN, G. et al. Antifungal activity of 2-acetylpyridine{n-(4-aminophenyl)-acetamid} thiosemicarbazone and salicylaldehyde{n-(4-amino-phenyl)-acetamid} thiosemicarbazone. In: *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2018, 26(3), p. 50. ISSN 1841-6624. [http://www.rrml.ro/articole/2018/2018\\_3\\_supliment.pdf](http://www.rrml.ro/articole/2018/2018_3_supliment.pdf)

4.1.3. BĂLAN, G. et al. Antifungal activity of new copper (II) complexes with 4-benzoyl-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3h-pirazol-3-one n(4)-ciclohexylthiosemicarbazone. In: *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2018, 26(3), p. 51. ISSN 1841-6624. [http://www.rrml.ro/articole/2018/2018\\_3\\_supliment.pdf](http://www.rrml.ro/articole/2018/2018_3_supliment.pdf)

4.1.4. BURDUNIUC, O. et al. Antifungal activity of some 3d metal coordination compounds with 2-[2-(prop-2-en-1-ylcarbamoithioy)-hydrazinylidene]-propanoic acid. In: *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2018, 26(3), p. 52. ISSN 1841-6624. [http://www.rrml.ro/articole/2018/2018\\_3\\_supliment.pdf](http://www.rrml.ro/articole/2018/2018_3_supliment.pdf)

4.1.5. BURDUNIUC, O. et al. Antifungal activity of iron, cobalt, nickel and zinc coordination with 2-[1-(2,4-dihydroxypheny) ethylidene]-n-(prop-2-en-1-yl)-hydrazinencarbothioamide. In: *Revista Română de Medicină de Laborator*. Tîrgu Mureș, România, 2018, 26(3), p. 53. ISSN 1841-6624. [http://www.rrml.ro/articole/2018/2018\\_3\\_supliment.pdf](http://www.rrml.ro/articole/2018/2018_3_supliment.pdf)

4.1.6. GULEA, A. et al. Synthesis, structure and antimicrobial activity of some 3d-metal coordination compounds with 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde 4-(dimethylphenyl)thiosemicarbazones. In: *Abstract book 4<sup>eme</sup> Colloque Franco-Roumain de Chimie Medicinale*. Iași, România, 2017, p. 72.

4.1.7. БАЛАН, Г., БУРДУНЮК, О., РУДИК, В. Влияние препарата BioR на персистентные свойства микроорганизмов. В: *VII Международная Научно- Практическая Конференция „Актуальные вопросы медицины”*. Баку, Азербайджан, 2018, с. 12-13. ISBN 978-9952-8276-0-6.

4.1.8. GULEA, A. et al. Synthesis, structure and biological activity of some 3d-metal coordination compounds with N'-[3-(methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(phenyl)methylidene]. In: *A XXXV-a Conferință Națională de Chimie. Călimănești-Căciulata*. Vâlcea, România, 2018, p. 24.

4.1.9. BALAN, G. et al. A study on biofilm production among *Candida* species. In: *VIII Annual International Scientific-Practical Conference „Medicine pressing questions”*. Baku, Azerbaijan, 2019, с. 60. ISBN 978-9952-8279-6-4.

#### **4.2. în lucrările conferințelor științifice naționale**

- 4.2.1. ROTARU, C., BIVOL, M., IACONI, O. S., BURDUNIUC, O. Formarea biofilmelor – unul din factorii de virulență ai fungilor. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p. 177.
- 4.2.2. BURDUNIUC, O. Nanotechnology approaches for fungal diseases. In: *One Health&Risk Management, Supplement*. 2021, 2, p. 18.
- 4.2.3. ȚAPU, L. ș.a. Particularitățile folosirii antimicrobienele de către studenții mediciniști. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p. 114.
- 4.2.4. BALAN, G. et al. Antibiotics and antibiotic resistant genes in water – environmental and human health risks. In: *Materials of the National Scientific Conference with International participation” Water and health: achievements and challenges. One Health&Risk Management, Supplement*. 2022, 3(2), p. 32.

### **4.3. în lucrările conferințelor științifice internaționale (în țară)**

- 4.3.1. BĂLAN, G. ș.a. Distribuția genelor de rezistență la antimicrobiene în obiectele de mediu. În: *Materialele Conferinței naționale cu participare internațională „Protecția sănătății – pentru un viitor sigur”*. Chișinău, 2022, p. 129.
- 4.3.2. CIOBANU, E. et al. Phage treatment and wetland technology as intervention strategy to prevent dissemination of antibiotic resistance in surface waters a project launch in low-middle income countries, Eastern Europe. In: *One Health&Risk Management, Supplement*. 2022, 3, p. 28.
- 4.3.3 BURDUNIUC, O., BĂLAN, G., RUSNAC, R., GULEA, A. Antimicrobial activity of some copper (II) coordination compounds with N-(4-(2-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol)methylene) hidrazincarbotoamido)phenyl)acetamide. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, p. 36. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.4 BURDUNIUC, O., BĂLAN, G., RUSNAC, R., GULEA, A. Antifungal activity of some heterocyclic compounds. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, p. 37. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.5 RUSNAC, R. et al. Azachalcone derivatives and their antifungal activity. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, p. 39. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.6 GRAUR, V. et al. Antimicrobial and antifungal activities of iron (III), cobalt (III), nickel (II) and zinc (II) coordination compounds with 2,4-dihydroxyacetophenone 4-allylthiosemicarbazone. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, pp. 51-52. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.7 ȚAPCOV, V. et al. Antimicrobial and antifungal effect of some biometal coordination compounds with 2-[(3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-(phenyl)methylidene]hydrazin -ecarboximidamide. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, pp. 55-56. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.8 USATAIA, I. et al. Antibacterial and antifungal activities of iron (III), cobalt (III), nickel (II) and copper (II) coordination compounds with 3,5-dibromosalicylaldehyde 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 2018, pp. 57-58. ISBN 978-9975-3178-8-7.
- 4.3.9 JOVMIR, T. et al. Water-soluble dicopper complex having antimicrobial activity. In: *International Conference Achievements and Perspectives of Modern Chemistry dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry*. Chișinău, 2019, p. 117. ISBN 978-9975-62-428-2.
- 4.3.10 GULEA, A. et al. Synthesis, antimicrobial and antifungal properties of copper(II) coordination compounds with 2,4-dihydroxybenzaldehyde 4-allylthiosemicarbazone containing amines. In: *International Conference Achievements and Perspectives of Modern Chemistry dedicated to the 60th anniversary of foundation of the Institute of Chemistry*. Chișinău, 2019, p. 149. ISBN 978-9975-62-428-2.

4.3.11 BUNESCU, I. et al. Clinical-evolutionary and diagnostic particularities in septicemia. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2022, nr. 3, 1(29), p. 130. ISSN 2345-1467. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/22546>

4.3.12 BURDUNIUC O., LOZNEANU I. Biological risk assessment in the handling of antimicrobial resistant microorganisms. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2022, nr. 3, 1(29), p. 131. ISSN 2345-1467. [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/131\\_13.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/131_13.pdf)

## **5. Brevete de invenție și alte obiecte de proprietate intelectuală (OPI)**

### **5.1. eliberate de Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală**

5.1.1. GULEA, A. ș.a. *Utilizare a N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-il)]-hidrazincarbotoamidei în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor gram-pozitive și fungilor Candida albicans*. Brevet de invenție MD 4648 C1 2020.04.30. BOPI nr. 9 din 30.09.2019.

5.1.2. BURDUNIUC, O. ș.a. *Compuși ai cuprului (II) cu 4-aliltiosemicarbazona 2-acetilpiridinei în calitate de inhibitori ai proliferării fungilor din specia Cryptococcus neoformans*. Brevet de invenție MD 4621 C1 2019.09.30. BOPI nr. 2 din 28.02.2019.

5.1.3. BĂLAN, G. et al. *Complexii sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(metoxifenil)hidrazincarbotoamide, care manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive*. Brevet de invenție MD 4652 C1 2020.04.30. BOPI nr. 9 din 30.09.2019.

5.1.4. GULEA, A., ȚAPCOV, V., BĂLAN, G., BURDUNIUC, O. *Tetrachis{[m<sup>3</sup>-2-(1-oxibutan-2-il)iminometil]-fenolato(2-)-O,N,O-Oalc}-tetracupru(II), care manifestă activitate antimicrobiană și antimicrobică*. Brevet de invenție MD 4667 C1 2020.07.31. BOPI nr. 12 din 31.12.2019.

5.1.5. GULEA, A. ș.a. *Inhibitor al proliferării fungilor din specia Cryptococcus neoformans în baza hidratului de cloro-{{[4-(2,4-dimetilfenil)-2-(oxo-3-metoxibenziliden)hidrazincarbotoamido(1-)]-O,N,S}-{{[4-(2,4-dimetilfenil)-5-(2-hidroxi-3-metoxifenil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tion]-S}cupru*. Brevet de invenție MD 4675 C1 2020.11.30. BOPI nr. 2 din 29.02.2020.

5.1.6. GULEA, A. ș.a. *Bis(μ<sub>2</sub>-sulfido)-bis{[N-ciclohexil-N-(1-piridin-2-il)etiliden]carbomhidrazontioato-(N,N,S)-oxomolibden} sescvihadrat care manifestă proprietăți de inhibitor al proliferării fungilor levuriformi* // Brevet de invenție MD 4708 B1 2020.08.31. BOPI nr. 8 din 31.08.2020.

5.1.7. GORINCIOI, V., LOZAN, V., BURDUNIUC, O., BĂLAN G. ș.a. *Utilizarea tetrasalicilatului de bariu-cupru în calitate de inhibitor al proliferării fungilor Cryptococcus neoformans*. Brevet de invenție MD 4712 B1 2020.09.30. BOPI nr. 9 din 30.09.2020.

5.1.8. JOVMIR, T. ș.a. *Compus hidrosolubil 2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru-hidratat pentru utilizare în calitate de remediu antimicrobic*. Brevet de invenție MD 4696 C1 2021.02.28. BOPI nr. 5 din 31.05.2020.

5.1.9. GORINCIOI, V. ș.a. *Utilizarea clusterului de oxohepta(salicilat)trifrier(III)-polisolvat în calitate de inhibitor al proliferării fungilor din specia Cryptococcus neoformans*. Brevet de invenție MD 4742 B1 2021.02.28. BOPI nr. 2 din 28.02.2021.

5.1.10. BURDUNIUC, O. ș.a. *Procedeu de obținere a materialelor pe baza de nanoparticule de argint cu activitate antifungică*. Cerere de brevet de scurtă durată nr. s 2022 0053 din 12.08.2022.

## **6. Materiale expuse la saloanele de invenții**

6.1. BALAN, G. et al. *Composes de coordination du cuivre (II) contenant du 2-(2-HIDROXY-BENZILIDEN)-N-(METOXIFENIL)HIDRAZINCARBOTIOAMIDE*. In: *Catalogue officiel: 46E Salon International des Inventions de Geneve*. Geneva, 11-15 Avril, 2018, p. 125.

6.2. BĂLAN, G. et al. *Copper containing agents with antibacterial activity against gram positive microorganisms*. In: *The 22nd International Exhibition of Inventics „Inventica 2018”*. Iasi-Romania, June 27-29, 2018, p. 326. ISSN: 1844-7880.

6.3. BURDUNIUC, O. et al. *Inhibitor of increase and multiplication of the fungi*. In: *The 22nd International Exhibition of Inventics „Inventica 2018”*. Iasi-Romania, June 27-29, 2018, p. 325. ISSN: 1844-7880.

- 6.4. BĂLAN, G. et al. Copper containing agents with antibacterial activity against gram positive microorganisms. In: *The 10th Edition of Euroinvent European Exhibition of Creativity and Innovation "EUROINVENT 2018"*. Iasi-Romania, May 17-19, 2018, p. 200. ISSN Print: 2601-4564.
- 6.5. BURDUNIUC, O. et al. Inhibitor of increase and multiplication of the fungi. In: *The 10th Edition of Euroinvent European Exhibition of Creativity and Innovation „EUROINVENT 2018"*. Iasi-Romania, May 17-19, 2018, p. 201. ISSN 2601-4564.
- 6.6. BURDUNIUC, O. et al. Molecular inhibitors against *Candida albicans* and gram-positive bacteria. In: *The 23rd International Exhibition of Inventics „Inventica 2019"*. Iasi-Romania, June 26-28, 2019, p. 343. ISSN 1844-7880.
- 6.7. GULEA, A. et al. Utilizarea N-ciclohexil-2-[1-(piridin-2-IL)etiliden] hidrazincarbo tioamidei în calitate de inhibitor al proliferării microorganismelor Grem-pozitive și fungilor din specia *Candida albicans*. In: *Catalog oficial Expoziția Internațională Specializată „INFOINVENT 2019"*. Chișinău, 20-23 octombrie, 2019, pp. 228-229.
- 6.8. JOVMIR, T. et al. Complex dinuclear de cupru hidrosolubil în calitate de remediu antimicrobian în medicină și agricultură / Water-soluble binuclear copper complex as antimicrobial remedy in medicine and agriculture. In: *Catalog oficial Expoziția Internațională Specializată „INFOINVENT 2019"*. Chișinău, 20-23 octombrie, 2019, pp. 27-28.

### Lucrări științifico-metodice și didactice

#### 7. Capitole în manuale

7.1. LOZAN, O., RÎMIȘ, C., COJOCARU, R., BURDUNIUC, O. Aspecte de biosiguranță, biosecuritate, evaluare a riscului. În: LOZAN, O. ș.a. *Managementul calității în laboratoarele din sistemul sănătății*. Chișinău: Tipografia, Import Plus”, 2017. 330 p. ISBN 978-9975-3042-9-0.

#### 8. Indicații metodice

8.1 BĂLAN, G. ș.a. *Factorii de patogenitate a microorganismelor – semnificația lor în patologia infecțioasă*. Chișinău: Tipografia „Print-Caro”. 2018. 72 p. ISBN 978-9975-56-615.

#### 9. Ghiduri

9.1 HALACU, A. ș.a. *Ghidul de reglementări pentru transportul substanțelor infecțioase*. Chișinău: „Tipografia Centrală”, 2019. 38 p. ISBN 978-9975-144-58-2.

9.2 HALACU, A. ș.a. *Procedura privind transportul și păstrarea probelor/substanțelor infecțioase pentru analize de laborator*. Chișinău, 2019. 41 p. ISBN 978-9975-146-58-6.

9.3 BURDUNIUC, O. *Contaminanții biologici ai produselor alimentare*. În: BĂHNĂREL I. ș.a. *Ghid de bune practici: alimentație rațională, siguranța alimentelor și schimbarea comportamentului alimentar*. Chișinău: Tipografia „Print-Caro”, 2019. 160 p. ISBN 978-9975- 56- 590-5.

9.4 BURDUNIUC, O. ș.a. *Ghid „Principii și proceduri în testarea microbiologică a hemoculturilor"*. Chișinău: „Tipografia Centrală”, 2020. 56 p. ISBN 978-9975-151-43-6.

9.5 BURDUNIUC, O. ș.a. *Ghidul, Asigurarea calității în diagnosticul microbiologic al infecțiilor tractului urinar*. Chișinău: „Tipografia Centrală”, 2021. 64 p. ISBN 978-9975-3415-9-2.

9.6 BURDUNIUC, O. ș.a. *Ghid, Diagnosticul microbiologic al ITR*. 2021. 81 p.

#### 10. Participări cu comunicări la forumuri științifice

##### - Internaționale

10.1 BURDUNIUC, O., BALAN, G., RUSNAC, R., GULEA, A. Antimicrobial activity of some copper (II) coordination compounds with N-(4-(2-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol)methylene) hidrazincarbotio-amido)phenyl)acetamide. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 11-12 october 2018.

10.2 BURDUNIUC, O., BALAN, G., RUSNAC, R., GULEA, A. Antimicrobial and antifungal activities of iron (III), cobalt (III), nickel (II) and zinc (II) coordination compounds with 2,4-dihydroxyacetophenone 4-allylthiosemicarbazone. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4nd edition)*. Chișinău, 11-12 october 2018.

10.3 USATAIA, I., GRAUR, V., TSAPKOV, V., VASÎLCA, M., BĂLAN, G., BURDUNIUC, O., GULEA, A. Antibacterial and antifungal activities of iron(III), nikel(II) and copper(II) coordination

compounds with 3,5-dibromosalicylaldehyde 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4th edition)*. Chişinău, 11-12 october 2018.

10.4 RUSNAC, R., BOTNARU, M., TSAPKOV, V., BURDUNIUC, O., BĂLAN, G., GULEA, A. Azachalcone derivatives and their antifungal activity. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4th edition)*. Chişinău, 11-12 october 2018.

10.5 TSAPKOV, V., COTOVAIA A., MILENTIEV A., BURDUNIUC, O., MITKEVICH N. Antimicrobial and antifungal effect of some biometal coordination compounds with 2-[(3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-(phenyl) methylidene] hydrazine carboximidamide. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology*. Chişinău, 11-12 october, 2018.

10.6 GRAUR, V., TSAPKOV V., DIURICI E., BALAN G., BURDUNIUC O., GULEA A., RUDIC V. Bacteriostatic and bactericide activities of some 3D metal complexes with 2-[2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioyl)-hydrazinylidene]propanoic acid. In: *International Scientific Conference on Microbial Biotechnology (4th edition)*. Chişinău, 11-12 october 2018.

10.7 BURDUNIUC, O., BALAN, G., RÎMIŞ, C. Biosafety and biosecurity in microbiological labs-challenges & opportunities. In: *International Conference titled „Socio-psycho-medical changes in the lifestyles of the contemporary family”*. *Antropological Research and Studies*. Bucharest, Romania, 7-8 october, 2015.

10.8 БАЛАН, Г., БУРДУНЮК, О., РУДИК, В. Влияние препарата BioR на персистентные свойства микроорганизмов. В: *VII Ежегодная Международная Научно-Практическая Конференция „Актуальные вопросы медицины”*. Баку, Азербайджан, 2-3 мая, 2018.

#### - Naţionale

10.9 BURDUNIUC, O. Infecţiile fungice preocupare actuală pentru comunitatea medicală. În: *Conferinţa ştiinţifică Naţională cu Participare Internaţională Optimizarea supravegherii epidemiologice în infecţiile nosocomiale*. Chişinău, 13- 14 octombrie, 2017.

10.10 ȚAPU, L., SPINEI, L., BURDUNIUC, O. Rezistenţa antimicrobiană ca problemă sociomedicală stringentă. În: *Sănătatea, medicina și bioetica în societatea contemporană: studii inter și pluridisciplinare = Health, Medicine and Bioethics in Contemporary Society: Inter-and Pluridisciplinary Studies: mater. conf. șt. internaț., ed. a 2-a*. Chişinău, 8-9 noiembrie, 2019.

10.11 BURDUNIUC, O. Actualități în diagnosticul infecțiilor fungice invazive. În: *CONGRESUL VIII al specialiștilor din domeniul sănătății publice și managementului sanitar „O SINGURĂ SĂNĂTATE”*. Chişinău, 24-25 octombrie, 2019.

10.12 BURDUNIUC, O., BÎRCĂ E., BURDUNIUC A., GRUMEZA M., BIOVOL M. Distribuția speciilor clinice de *Candida* și sensibilitatea acestora la antifungice. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la formarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chişinău, 21-23 octombrie, 2020.

10.13 BALAN, G., BURDUNIUC, O. Synergistic Action of Some Chemical and Biological Compounds. În: *Conferință științifică națională cu participare internațională „Materiale avansate în biofarmaceutică și tehnică”*. Chişinău, 26 mai, 2021.

10.14 BURDUNIUC, O. One Health approach and prevention, control of antimicrobial resistance. In: *The 1st edition of the National Conference with International participation „One Health Approach in a Changing World”*. Chişinău, 4-5 november, 2021.

10.15 BURDUNIUC, O. Silver nanoparticles as new antifungal agents against *Candida* species. In: *The 1st edition of the National Conference with International participation „One Health Approach in a Changing World”*. Chişinău, 4-5 november, 2021.

10.16 BURDUNIUC, O. Rezistenţa la antimicrobiene, problemă majoră de sănătate publică care necesită eforturi comune. În: *Conferința Internațională „Pandemia COVID-19 - atitudini, contraverse și provocări în asistența perinatală”*. Chişinău, 2 decembrie, 2021.

10.17 BURDUNIUC, O. Abordarea multidisciplinară în diagnosticul, prevenirea și controlul infecțiilor cauzate de patogenii multirezistenți la antibiotice. În: *Conferința Națională cu participare Internațională „Stopați pneumonia: investiți în sănătatea copiilor” dedicată Zilei Mondiale a Pneumoniei celebrată în 12 noiembrie*. Chişinău, 10 noiembrie, 2022.

#### 11. Participări cu postere la foruri științifice:

- internaționale

- 11.1 BURDUNIUC, O., MARES, M., DENNING, D.W. Burden of Serious Fungal Diseases in Republic of Moldova. In: *20<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology*. Amsterdam, Netherlands, 30 June- 4 July, 2018.
- 11.2 BĂLAN, G., BURDUNIUC, O., RUSNAC, R., RUSNAC, A., RUDIC, V., GULEA, A. Antifungal activity of 2-acetylpyridine{n-(4-aminophenyl)-acetamid}thiosemicarbazone and salicylaldehyde{ n-(4-amino-phenyl)-acetamid} thiosemicarbazone. In: *First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology*. Timișoara, România, 13-15 september, 2018.
- 11.3 BĂLAN, G., BURDUNIUC, O., RUSNAC, A., RUSNAC, R., RUDIC, V., GULEA, A. Antifungal activity of new copper (II) complexes with 4-benzoyl-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3h-pirazol-3-one n(4)-ciclohexylthiosemicarbazone. In: *First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology*. Timișoara, România, 13-15 september, 2018.
- 11.4 BURDUNIUC, O., BĂLAN, G., GRAUR, V., DIURICI, E., ȚAPCOV, V., RUDIC, V., GULEA, A. Antifungal activity of some 3d metal coordination compounds with 2-[2-(prop-2-en-1-ylcarbamothioy)-hydrazinylidene]-propanoic acid. In: *First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology*. Timișoara, România, 13-15 september, 2018.
- 11.5 BURDUNIUC, O., BĂLAN, G., GRAUR, V., MOLDOVAN, E., ȚAPCOV, V., RUDIC, V., GULEA, A. Antifungal activity of iron, cobalt, nickel and zinc coordination with 2-[1-(2,4-dihydroxyphenyl)ethylidene]-n-(prop-2-en-1-yl)-hydrazinocarbothio-amide. In: *First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology*. Timișoara, România, 13-15 september, 2018.
- 11.6 GULEA, A, BALAN, G., BURDUNIUC, O., et.al. Synthesis, structure and biological activity of some 3d-metal coordination compounds with N'-[3-(methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(phenyl) methylidene] benzohydrazide. In: *XXXV-a Conferință Națională „Romanian Chemistry Conference”*, Călimănești-Căciulata, Vâlcea , Romania, 2-5 octombrie, 2018.
- 11.7 JOVMIR, T., POPA, T., BALAN, G., BURDUNIUC, O., et al. Water-soluble dicopper complex having antimicrobial activity. In: *International Conference “Achievements and perspectives of modern chemistry” dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry*. Chisinau, October 9-11, 2019.
- 11.8 GULEA, A., ULCHINA, I., GRAUR, V., TSAPKOV, V., CHUMAKOV, Y., PETRENKO, P., BALAN, G., BURDUNIUC. O. Synthesis, antimicrobial and antifungal properties of copper(II) coordination compounds with 2,4-dihydroxybenzaldehyde 4-allylthiosemicarbazone containing amines. In: *International Conference “Achievements and perspectives of modern chemistry” dedicated to the 60th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry*. Chișinău, October 9-11, 2019.
- 11.9 ROTARU, C., BIVOL, M., IACONI, O-S, BURDUNIUC, O. Formarea biofilmelor – unul din factorii de virulență ai fungilor. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la formarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 21-23 octombrie, 2020.
- 11.10 ȚAPU, L., GURGHİȘ, E., BURDUNIUC, O., FERDOHLEB, A., SPINEI, L. Particularitățile folosirii antimicrobienelelor de către studenții mediciști. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la formarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 21-23 octombrie, 2020.
- 11.11 BURDUNIUC, O. Synergistic antifungal effect of new compounds against *C.albicans* biofilms. In: *The 1st edition of the National Conference with International participation „One Health Approach in a Changing World”*. Chișinău, 4-5 november, 2021.
- 11.12 BURDUNIUC, O., GREJDIERU, A., BALAN, G. Synergistic antifungal activity of thiosemicarbazone-metal complexes combined with *Spirulina platensis* extracts against *Candida* spp. In: *2nd Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology „Balkan Fungus 2022”*. Thessaloniki, Greece, October 6-8, 2022.
- 11.13 GREJDIERU, A., SAMOHVALOV, E., OPREA, I., BURDUNIUC, O., BALAN, G., GRIB, L., GRĂJDIERU, R., FILIMON, S., PANFILE, E. The vulnerable characteristics of the fungal infective endocarditis. In: *2nd Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology „Balkan Fungus 2022”*. Thessaloniki, Greece, October 6-8, 2022.

## ADNOTARE

**BURDUNIUC Olga**

### **PRODUSE INOVAȚIONALE CU ACȚIUNE ANTIFUNGICĂ ASUPRA UNOR AGENȚI CAUZALI AI MICOZELOR UMANE**

**Teză de doctor habilitat în științe medicale, Chișinău, 2023**

**Structura tezei:** introducere, șase capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografia din 334 titluri, 20 anexe, 228 pagini de text de bază, 80 de figuri, 38 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 60 de lucrări științifice și științifico-metodice.

**Cuvinte cheie:** fungi, factori de patogenitate, antifungice, nanoparticule de Ag.

**Domeniul de studiu:** Microbiologie, Virusologie medicală.

**Scopul cercetării:** Evaluarea activității antifungice a unor noi compuși în vederea argumentării principiilor de elaborare a medicamentelor policomponente eficiente în terapia infecțiilor fungice.

**Obiectivele cercetării:** (1) Stabilirea diversității speciilor și sensibilității la antifungice a micetelor levuriforme izolate din biosubstrate; (2) Evidențierea fenotipică a expresiei factorilor de patogenitate a tulpinilor clinice de *Candida* spp; (3) Cercetarea potențialului antifungic a noilor compuși chimici, biologici, nanoparticulelor de Ag generate din derivați celulozici asupra tulpinilor de referință și clinice; (4) Analiza activității sinergice, caracterizarea efectelor antifungice a compușilor monocompenți și policompenți; (5) Evaluare acțiunii compușilor testați față de exprimarea factorilor de patogenitate a *Candida* spp; (6) Studiarea influenței compușilor biologic activi asupra parametrilor biochimici.

**Noutatea și originalitatea științifică:** Pentru prima dată a fost identificată, fundamentată științific activitatea antifungică, antioxidantă și imunomodulatoare a unor noi substanțe biologic active asupra micetelor levuriforme cu evidențierea proprietăților de inhibiție a expresiei factorilor de virulență și brevetate în calitate de produse inovaționale cu acțiune antifungică.

**Problema științifică soluționată:** evaluată acțiunea antifungică a unor noi compuși chimici, biologici, nanoparticulelor de Ag generate din derivați celulozici ce serveste ca punct de plecare pentru crearea direcției științifice aplicative și principii de sinteza a nanocompozitelor naturale și produse inovaționale combinate cu potențial de acțiune antifungică la costuri reduse.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării:** studiu realizat vine în consens cu agendele de cercetare strategică ale inițiativelor internaționale în domeniu, politicile în domeniul sănătății publice, obiectivele strategice a Planului Global de acțiune privind rezistența la antimicrobiene oferind dovezi fiabile pentru dezvoltare de alternative antifungice combinate cu valorificarea acestora în vederea obținerii unor noi forme farmaceutice pentru terapia infecțiilor fungice și crearea unui sistem de supraveghere a rezistenței la antifungice în Republica Moldova.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele privind evidențierea expresiei factorilor enzimatici ai levurilor, ghidurile practice privind diagnosticul fungilor în biosubstrate au fost implementate în activitatea laboratoarelor microbiologice din cadrul rețelei naționale publice și private, în procesul didactic de pregătire a cadrelor medicale USMF, „Nicolae Testemițanu”, Centrul de excelență în medicină și farmacie „Raisa Pacalo”.



## АННОТАЦИЯ БУРДУНЮК Ольга

### ИННОВАЦИОННЫЕ ПРЕПАРАТЫ С ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА НЕКОТОРЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗОВ ЧЕЛОВЕКА

Диссертация доктора медицинских наук. Кишинев, 2023

**Структура диссертации:** введение, шесть глав, общие выводы и практические рекомендации, библиография из 334 наименований, 20 приложений, 228 страниц основного текста, 80 рисунков, 38 таблицы. Полученные результаты опубликованы в 60 научной и научно-методической статье.

**Ключевые слова:** грибы, факторы патогенности, противогрибковые препараты наночастиц серебра.

**Область исследования:** Микробиология, Медицинская вирусология.

**Цель исследования:** Оценка противогрибковых свойств и механизмов действия некоторых комплексных соединений с целью обоснования разработки новых противогрибковых формул и установления перспективы клинического применения.

**Задачи исследования:** (1) Установление видовое разнообразие, чувствительности к противогрибковым препаратам дрожжевых грибов, выделенных из биосубстратов; (2) Выделение фенотипической экспрессии факторов патогенности у клинических штаммов *Candida* spp (3) Исследование противогрибкового потенциала новых химических, биологических соединений, наночастиц серебра полученных из производных целлюлозы, на эталонных и клинических штаммах; (4) Анализ синергетической активности, характеризующей потенциальные противогрибковые эффекты монокомпонентных и поликомпонентных соединений; (5) Оценка действия тестируемых соединений на экспрессию факторов вирулентности; 6) Изучение влияния биологически активных соединений на биохимические показатели.

**Научная новизна и оригинальность:** впервые была определена и научно обоснована противогрибковая, антиоксидантная и иммуномодулирующая активность новых биологически активных веществ в отношении дрожжевых грибов с выявлением свойств ингибирования экспрессии факторов вирулентности. Они запатентованы как инновационные препараты с противогрибковым действием.

**Решенная научная задача:** проведена оценка противогрибкового действия некоторых новых химических, биологических соединений, наночастиц Ag, полученных из производных целлюлозы, что послужило отправной точкой для создания прикладного научного направления и принципов синтеза природных наноконструкций и инновационных продуктов в сочетании с потенциалом противогрибкового действия при низких затратах.

**Теоретическая значимость и прикладная ценность работы:** проведенное исследование согласуется со стратегическими исследовательскими программами международных инициатив в данной области, политикой в области общественного здравоохранения, стратегическими целями Глобального Плана действий по борьбе с резистентностью к противомикробным препаратам, предоставляя надежные доказательства для разработки противогрибковых альтернатив в сочетании с их капитализацией с целью получения новых лекарственных форм для терапии грибковых инфекций и создания системы надзора за устойчивостью к противогрибковым препаратам в Республике Молдова.

**Внедрение научных результатов:** Результаты по выявлению экспрессии ферментативных факторов дрожжей, практические руководства по диагностике грибов в биосубстратах были внедрены в деятельность микробиологических лабораторий в рамках национальной государственной и частной сети, в дидактический процесс обучения медицинского персонала КГМУ „Николае Тестемицану”, Центр передового опыта в области медицины и фармации „Раиса Пакало”.

**SUMMARY**  
**BURDUNIUC Olga**

**INNOVATIVE PRODUCTS WITH ANTIFUNGAL ACTION ON SOME CAUSAL AGENTS OF HUMAN MYCOSES**

**PhD thesis in medical sciences, Chisinau, 2023**

**Thesis structure:** introduction, six chapters, general conclusions and practical recommendations, bibliography of 334 titles, 20 appendices, 228 pages of basic text, 80 figures, 38 tables. The obtained results are published in 60 scientific and scientific-methodical works.

**Key words:** fungi, pathogenicity factors, antifungals, silver nanoparticles

**Field of study:** Microbiology, Medical Virology.

**The purpose of the research:** Evaluation of the antifungal activity of some new compounds in order to argue the principles of developing polycomponent drugs effective in the therapy of fungal infections.

**The objectives of the research:** (1) Establishing the diversity of species and sensitivity to antifungals of the yeast fungi isolated from biosubstrates; (2) Phenotypic highlighting of the expression of pathogenicity factors of clinical strains of *Candida* spp; (3) Research of the antifungal potential of new chemical, biological compounds, Ag nanoparticles generated from cellulosic derivatives on reference and clinical strains; (4) Synergistic activity analysis, characterization of the antifungal effects of monocomponent and polycomponent compounds; (5) Evaluation of the action of the tested compounds against the expression of pathogenicity factors of *Candida* spp; (6) Studying the influence of biologically active compounds on biochemical parameters.

**Scientific novelty and originality:** For the first time, the antifungal, antioxidant and immunomodulatory activity of new biologically active substances on yeast fungi was identified and scientifically substantiated, highlighting the properties of inhibiting the expression of virulence factors and patented as innovative products with antifungal action.

**The scientific problem solved:** evaluated the antifungal action of some new chemical, biological compounds, Silver nanoparticles generated from cellulosic derivatives which serves as a starting point for the creation of the applied scientific direction and principles for the synthesis of natural nanocomposites and innovative products combined with the potential of antifungal action at low costs.

**The theoretical significance and the applied value of the study:** the study carried out is in agreement with the strategic research agendas of the international initiatives in the field, the policies in the field of public health, the strategic objectives of the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance providing reliable evidence for development of antifungal alternatives combined with their capitalization in order to obtain new pharmaceutical forms for the therapy of fungal infections and the creation of a surveillance system for resistant to antifungals in the Republic of Moldova.

**Implementation of the scientific results:** The results regarding the highlighting of the expression of the enzymatic factors of the yeasts, the practical guidelines regarding the diagnosis of fungi in biosubstrates were implemented in the activity of the microbiological laboratories within the national public and private network, in the didactic process of training the USMF medical staff, „Nicolae Testemițanu”, „Raisa Pacalo” Center of Excellence in Medicine and Pharmacy.

**BURDUNIUC OLGA**

**PRODUSE INOVAȚIONALE CU ACȚIUNE ANTIFUNGICĂ ASUPRA UNOR AGENȚI  
CAUZALI AI MICOZELOR UMANE**

**313.02 – Microbiologie, virusologie medicală**

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar: 31.07.2023    Formatul hârtiei 60x84 1/16

Hârtie ofset. Tipar digital    Tiraj 100 ex.

Coli de tipar: 4,0    Comanda nr.

---

Tipografia PRINT-CARO,  
mun. Chișinău, str. Columna 170  
tel.: 022-85-33-86