

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U: 616.9 – 036.22 – 084:616.8-089

BERDEU ION

**OPTIMIZAREA MONITORINGULUI
ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN INFECȚIILE
SEPTICO-PURULENTE LA NIVEL DE INSTITUȚIE MEDICALĂ**

331.01. Epidemiologie

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2015

Teza a fost elaborată în cadrul Catedrei de Epidemiologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu

Conducător științific:

Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., mem. cor. al AȘM, om Emerit

Referenți oficiali:

Ivan Aurel – dr., prof. univ., UMF „Gr. T. Popa”, Iași, România.

Cotici Alexandru – dr. șt. med., conf. univ.

Componenta consiliului științific specializat:

Holban Tiberiu, președinte, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Paraschiv Angela, secretar științific, dr. șt. med., conf. univ.

Iarovoi Petru, dr. hab. șt. med., conf. cercet.

Spînu Constantin, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Buraciova Svetlana, dr. șt. med., conf. cercet.

Ciobanu Gheorghe, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Balica Ion, dr. hab. șt. med., conf. univ.

Susținerea va avea loc la 15 mai 2015, ora 14⁰⁰ în ședința Consiliului științific specializat D 50 331.01 – Epidemiologie din cadrul IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, MD 2004).

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu din Republica Moldova (Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, MD 2004) și pe pagina web a C.N.A.A. (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la ____ 2015

Secretar științific al Consiliului științific specializat,

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

Conducător științific,

Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ.,

mem. cor. al AȘM, om Emerit

Autor Berdeu Ion

BERDEU ION

**OPTIMIZAREA MONITORINGULUI
ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN INFECȚIILE
SEPTICO-PURULENTE LA NIVEL DE INSTITUȚIE MEDICALĂ**

331.01. Epidemiologie

Teză de doctor științe medicale

Aprobat spre tipar: 14.04.2015

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Tiraj 50 ex

Coli de tipar:1,7

Comanda nr. 13

SRL „PRINT-CARO”
Str. Mircești 22/2, tel. 93-16-53

Actualitatea temei. Antibioticorezistența microbiană este o problemă globală. Principalele foruri mondiale de sănătate au descris antibioticorezistența ca pe o amenințare catastrofală pentru sănătatea publică din orice țară a lumii [1].

Identificarea agenților patogeni în maladiile infecțioase la sfârșitul secolului XIX a stimulat căutarea de remedii pentru prevenire și tratament. Însă combaterea cu succes a acestora a devenit posibilă doar odată cu descoperirea și utilizarea antibioticelor o jumătate de secol mai târziu [2].

De la implementarea primelor preparate de penicilină G în practica terapeutică în anul 1941 au trecut mai bine de șapte decenii. Descoperirea a numeroase clase noi de antibiotice în perioada dată a extins și diversificat arsenalul chimioterapeutic antibacterian, în prezent fiind înregistrate peste 30 clase, iar numărul de preparate aparte atinge 200 [3].

Concomitent, încă din anii '60 ai secolului trecut s-a observat că mulți agenți patogeni au dobândit rezistență la diferite tipuri și chiar grupe de antibiotice și acest fenomen devine tot mai grav din punct de vedere clinic, epidemiologic și socioeconomic [4,5,6,7,8,9].

În urma unui studiu privind antibioticorezistența microbiană realizat în Europa (2012), s-a stabilit că în jur de 25 000 de pacienți mor anual din cauza infecțiilor cauzate de microorganisme rezistente la antibiotice, iar pierderile economice sunt de 1,5 miliarde de euro anual [10].

În acest context, OMS a elaborat „Strategia globală pentru supravegherea și controlul rezistenței la antibiotice (1984, 1995, 2001, 2005)”. În anul 1995, OMS pentru prima dată a considerat rezistența la antibiotice o „amenințare globală”, iar în anul 2010 raportul OMS privind bolile transmisibile s-a intitulat „Învingerea rezistenței la antibiotice”, iar deja în anul 2011 OMS a anunțat anul luptei cu antibioticorezistența sub sloganul „Nu vom lua măsuri azi – nu vom avea cu ce trata bolnavii mâine” [11,12,13,14].

În anul 1996 a fost creată Comisia Europeană pentru Rezistența Antimicrobiană, iar în anul 1998 a fost instituit Sistemul European de Supraveghere a Rezistenței la antibiotice, care urmărește promovarea unui cadru unitar necesar pentru cunoașterea situației, supravegherea epidemiologică a evoluției rezistenței și realizarea unor măsuri concrete de diminuare a antibioticorezistenței [15].

Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare

În Republica Moldova însă nu există un sistem organizat de supraveghere a antibioticorezistenței microbiene și de consum al preparatelor antimicrobiene. Dar au fost realizate mai multe studii independente care confirmă actualitatea problemei [3,16,17,18,19,20,21].

Spre exemplu, studiul efectuat de A. Paraschiv, în anul 2006 privind nivelul de rezistență la antibiotice a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISPN din secțiile de chirurgie abdominală și traumatologie, a stabilit că 54,87% din ele au fost rezistente la antibiotice și numai 45,13% - sensibile. Cea mai înaltă rezistență tulpinile cercetate au manifestat față de peniciline (92,30%), tetracicline (72,41%),

macrolide (70,97%), polipeptide (68,18%), iar sensibile la cefalosporine (50,80%), fluorochinolone (70,0%), aminoglicozide (58,34%) [22].

Un alt studiu efectuat de V. Prisacari și E. Leu în anul 2008 a constatat că tulpinile izolate de la pacienții cu ISP neurochirurgicale au manifestat rezistență la peniciline (62,85%), cefalosporine de generația a doua (73,0%), cefalosporine de generația a treia (65,30%) și tetraciline (52,30%) [17].

Studiul efectuat de O. Burduniuc a determinat că tulpinile de E. coli izolate din uroculturi, au fost rezistente în special la ticarcilină (57%), amoxicilină (47,2%), cefalotină (41,5%), tetracilină (39,4%), acid nalidixic (23,8%), cotrimoxazol (23,3%), și ofloxacină (21,2%). O rezistență mult mai mică s-a înregistrat la amikacină (2,1%) și cefoxitin (3,2%) [23].

În anul 2011, studiul efectuat în cadrul unei instituții medicale multiprofil, a stabilit ca microorganismele izolate de la pacienții cu ISP au manifestat o rezistență înaltă la peniciline (65,40%), cefalosporine (79,40%), nitrofurane (60,90%) și sensibilitate la beta-lactam+inhibitor (64,0%), peneme (78,90%), aminoglicozide (63,30%), chinolone (62,90%) [19].

Pentru diminuarea antibioticorezistenței microbiene este necesar de a fortifica sistemul de supraveghere și monitoring a antibioticorezistenței. Un element important în realizarea supravegherii epidemiologice a antibioticorezistenței microbiene este crearea și implementarea sistemelor funcționale de monitorizare a antibioticorezistenței la nivel de instituție medicală.

Monitorizarea rezistenței antimicrobiene poate ajuta la dezvoltarea terapiei raționale [24]. Datele obținute în urma studiilor pot fi folosite cu scopul de a controla și limita răspândirea microorganismelor rezistente la antibiotice prin achiziționarea și utilizarea rațională a preparatelor antimicrobiene [25]. Datele obținute în urma supravegherii pot spori siguranța pacienților și constituie o sursă esențială de informații cu privire la magnitudinea și tendințele rezistenței [26,27,28].

Scopul lucrării: optimizarea sistemului de monitoring a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente la nivel de instituție medicală.

Obiectivele studiului

1. Implementarea programului computerizat pentru monitorizarea și controlul antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală multiprofil.

2. Studiarea în baza programului computerizat a structurii etiologice, spectrului de rezistență/sensibilitate a agenților cauzali ai infecțiilor septico-purulente în funcție de specia microorganismului, tipul și grupa antibioticelor, profilul staționarului.

3. Optimizarea principiilor de achiziționare și utilizare rațională a antibioticelor.

Metodologia cercetării științifice

Studiul efectuat a inclus metode microbiologice și epidemiologice și se referă la studiile epidemiologice transversale realizate în perioada anilor 2010 și 2013. Cercetarea a fost efectuată pe un lot de 6978 tulpini de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu. Inclusiv 5886 tulpini au fost supuse studierii antibioticorezistenței prin utilizarea metodei disc-difuzimetrică (Kirby-Bauer), iar 1092 tulpini cu ajutorul analizatorului microbiologic automatizat VITEK 2 Compact. Pentru formarea bazei de date cu privire la rezultatele testării la

SUMMARY

Berdeu Ion „Optimization of microbial antibiotic resistance monitoring in septic-purulent infections at the medical institution level”

PhD thesis, Chisinau, 2015

Thesis structure: The paper is exposed on 129 pages, includes 55 figures, 12 tables, 5 appendices; consists of the following structure: introduction, five chapters, conclusions and practical recommendations, summarized in Romanian, Russian, English, 264 references, the results are reflected in 12 publications.

Key words: surveillance, septic-purulent infections, antimicrobial resistance, gram-positive microorganisms, gram-negative microorganisms, antibiotics.

Research field: 331.01. Epidemiology.

The purpose of the paper: Optimization of antimicrobial resistance monitoring system in septic-purulent infections at the medical institution level.

The objectives of the study: Implementation of computerized program for monitoring and controlling of antimicrobial resistance at the level of multi-profile medical institution. Study the etiological structure, spectrum of resistance/susceptibility of the causative agents of septic-purulent infections depending on the microorganism species, type and group of antibiotics, ward profile is based on the computer program. Optimization the principles of acquisition and rational use of antibiotics.

The scientific innovation of the research. The etiological structure in septic-purulent infections was elucidated on the model of multi-profile hospital, the level of antimicrobial resistance of etiological agents in septic-purulent infections was determined as well. The evolutionary peculiarities in multi-annual dynamics of etiological structure and antimicrobial resistance / susceptibility were elucidated.

The scientific problem solved. A functional system for monitoring of antimicrobial resistance at the level of medical institution was developed.

Theoretical significance and applied value of work: A computerized monitoring system was implementing based on the WHONET program at the level of multi-profile medical institution, which allowed creating the database with further analysis regarding the specificity and sensitivity of the etiologic agents in septic-purulent infections and their resistance/ sensibility to antibiotics.

Implementation of results: The study results were implemented at the Institute of Emergency Medicine and the Department of Epidemiology as teaching material for university education and postgraduate doctors.

РЕЗЮМЕ

Бердеу Ион „Оптимизация мониторинга микробной антибиотикорезистентности при гнойно-септических инфекциях на уровне медицинского учреждения”

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук,
Кишинэу, 2015 г.

Структура диссертации: Работа представлена на 129 страницах, включает 55 рисунков, 12 таблиц, 5 приложений и состоит из следующих структурных разделов: введения, 4 глав, выводов и практических рекомендации, резюме на румынском, русском, английском языках, 264 ссылок; результаты исследований отражены в 12 публикациях.

Ключевые слова: наблюдение, гнойно-септические инфекции, резистентность к антибиотикам, грамположительные микроорганизмы, грамотрицательные микроорганизмы, антибиотики.

Область исследования: 333.01. Эпидемиология

Цель исследования: Оптимизация системы мониторинга микробной антибиотикорезистентности при гнойно септических инфекциях на уровне медицинского учреждения.

Задачи исследования. Внедрение компьютерной программы для мониторинга и контроля резистентности микроорганизмов к антибиотикам на уровне медицинского учреждения. Исследование на основе компьютерной программы этиологической структуры, спектра устойчивости/чувствительности возбудителей гнойно-септических инфекций в зависимости от вида микроорганизма, типа и группы антибиотиков, профиля секции. Оптимизация принципов закупок и рационального использования антибиотиков.

Научная оригинальность и новизна: Впервые внедрена функциональная система мониторинга микробной антибиотикорезистентности на уровне медицинского учреждения. Выявлена этиологическая структура госпитальных гнойно-септических инфекций на модели многопрофильной больницы, определена степень чувствительности / резистентности к антибиотикам микроорганизмов - возбудителей гнойно-септических инфекций. При помощи программы WHONET выяснены эволюционные особенности этиологической структуры и чувствительности / устойчивости к антибиотикам возбудителей гнойно-септических инфекций в многолетней динамике.

Научная проблема, решенная в рамках исследования. Разработана функцио-нальная система мониторинга резистентности микроорганизмов к антибиотикам на уровне медицинского учреждения.

Теоретическая и практическая значимость работы: На уровне многопрофильного медицинского учреждения внедрена автоматизированная система мониторинга устойчивости возбудителей к антибиотикам разработанная на основе программы WHONET, что позволяет создать базу данных с последующим анализом специфических этиологических агентов при гнойных септических инфекций и чувствительности / устойчивости их к антибиотикам.

Внедрение результатов. Полученные результаты были внедрены в Институте неотложной медицинской помощи и Департаменте эпидемиологии в качестве учебного материала для университетского и последипломного образования врачей.

антибиотике а тulpинилor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP, a fost utilizat programul WHONET. În baza de date au fost incluse datele privind sensibilitatea / rezistența la antibiotice a microorganismelor izolate testate atât prin metoda disc-difuzimetrică, cât și cu analizatorul microbiologic automatizat VITEK 2 Compact. Pentru prelucrarea statistică a rezultatelor obținute au fost utilizate următoarele teste statistice: intervalul de încredere (CI 95%) și criteriul t student.

Noutatea științifică a lucrării

1. Pentru prima dată în Republica Moldova a fost implementat un sistem funcțional de monitoring a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală;

2. A fost elucidată structura etiologică în infecțiile septico-purulente nosocomiale pe modelul spitalului multiprofil

3. A fost determinat gradul de antibioticosenzibilitate/rezistență a microorganismelor-agenti cauzali ai ISPN în funcție de tipul microorganismului, tipul și grupa antibioticelor, profilul staționarului;

4. Au fost determinate particularitățile antibioticosenzibilității/rezistenței microorganismelor – agenți cauzali ai ISP, în funcție de tipul tratamentului: staționar și ambulatoriu;

5. Au fost evaluate posibilitățile de diagnosticare a agenților cauzali și de determinare a antibioticorezistenței prin metoda clasică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact, cu ajutorul programului WHONET;

6. Au fost elucidate particularitățile evolutive a structurii etiologice și antibioticosenzibilității/ rezistenței în ISP în dinamica multianuală.

Problema științifică soluționată. A fost elaborat un sistem funcțional de monitoring a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală și determinată structura etiologică a ISP și gradul de antibioticorezistență a microorganismelor izolate.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării

1. În plan internațional au fost completate studiile privitor la structura etiologică și antibioticorezistența agenților cauzali în ISPN.

2. În plan local, în premieră a fost implementat sistemul computerizat de monitoring a antibioticorezistenței în baza programului WHONET la nivel de instituție medicală multiprofil, ceea ce a permis de a crea baza de date cu analiza lor ulterioară privitor la specificul agenților etiologici în ISP și sensibilitatea/rezistența lor față de antibiotice.

3. A sporit interesul administrației instituției medicale, epidemiologului de spital, medicilor cu privire la problema antibioticorezistenței microbiene, achiziționarea și administrarea rațională a antibioticelor.

4. Rezultatele obținute vor servi drept bază pentru perfecționarea Ghidului de supraveghere și control în infecțiile nosocomiale.

Principalele rezultate științifice înaintate spre susținere

- Agenții cauzali ai ISP s-au caracterizat prin polimorfism etiologic și rezistență sporită la antibiotice.
- Structura etiologică a ISP a fost mult mai variată în staționar – 44 specii de microorganisme, comparativ cu 33 specii izolate de la pacienții tratați ambulatoriu.

- Metoda automatizată s-a dovedit a fi mai sensibilă privitor la determinarea speciilor de microorganisme, fiind identificate 76 specii comparativ cu 52 specii identificate prin metoda clasică.
- În evoluția multianuală, s-a determinat o creștere a ponderii microorganismelor gram-negative, de la 33,90% în anul 1997, la 41,20% în 2010 și 56,50% în anul 2013.

Implementarea practică a rezultatelor

Rezultatele studiului au fost implementate în cadrul Institutului de Medicină Urgentă, prin montarea programului computerizat de evidență și analiză a antibioticorezistenței la nivel de instituție, precum și la catedra Epidemiologie ca material didactic pentru instruirea universitară, cât și postuniversitară a medicilor.

Experiența acumulată în procesul realizării tezei privitor la organizarea sistemului de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene va fi elucidată în Ghidul de supraveghere și control în infecțiile nosocomiale.

Aprobarea rezultatelor științifice

- Conferințele științifice anuale ale colaboratorilor și studenților USMF „Nicolae Testemițanu”, 2011, 2012, 2013, 2014, Chișinău, Republica Moldova;
- Conferința Științifică Națională cu Participare Internațională „Optimizarea Supravegherii Epidemiologice în Infecțiile Nosocomiale”, 25 mai 2012, Chișinău, Republica Moldova;
- Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием „Эпидемиология в XXI веке: новые горизонты профилактики”, 25-27 сентября 2013, Кемерово, Россия;
- Congresul specialiștilor din domeniul sănătății publice și managementului sanitar din Republica Moldova, Chișinău, 25-26 octombrie, 2013;
- Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием „Новые технологии специфической профилактики инфекционных болезней”, 21-22 апреля 2014, Владивосток, Россия;
- Congresul Internațional al Studenților și Tinerilor Medici Cercetători „MedEspera-2014”, ediția V-a, 14-17 mai 2014, Chișinău, Republica Moldova.

Publicații la tema tezei

În baza materialelor tezei au fost publicate 12 lucrări științifice, dintre care 2 articole în reviste din străinătate recunoscute, 10 articole în reviste naționale recenzate, inclusiv 3 articole cu un singur autor.

Volumul și structura tezei

Lucrarea este expusă pe 129 pagini, include 55 figuri, 12 tabele, 5 anexe; constă din următoarea structură: introducere, patru capitole, concluzii și recomandări practice, rezumat în limbile română, rusă, engleză, 264 referințe bibliografice, rezultatele fiind reflectate în 12 publicații.

Cuvinte cheie: supraveghere, infecții septico-purulente, antibioticorezistență, microor-ganisme grampozitive, microorganisme gramnegative, antibiotice.

ADNOTARE

Berdeu Ion „Optimizarea monitoringului antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente la nivel de instituție medicală”

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2015

Structura tezei: Lucrarea este expusă pe 129 pagini, include 55 figuri, 12 tabele, 5 anexe; constă din următoarea structură: introducere, 4 capitole, concluzii și recomandări practice, rezumat în limbile română, rusă, engleză, 264 referințe bibliografice, rezultatele fiind reflectate în 12 publicații.

Cuvinte cheie: supraveghere, infecții septico-purulente, antibioticorezistență, microor-ganisme grampozitive, microorganisme gramnegative, antibiotice.

Domeniu de studiu: 331.01. Epidemiologie.

Scopul lucrării: optimizarea sistemului de monitoring a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente la nivel de instituție medicală.

Obiectivele studiului. Implementarea programului computerizat pentru monitorizarea și controlul antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală multiprofil. Studiarea în baza programului computerizat a structurii etiologice, spectrului de rezistență/sensibilitate a agenților cauzali ai ISP în funcție de specia microorganismului, tipul și grupa antibioticelor, profilul secției. Optimizarea principiilor de achiziționare și utilizare rațională a antibioticelor.

Noutatea și originalitatea științifică. În premieră a fost implementat un sistem funcțional de monitoring a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală. A fost elucidată structura etiologică în ISPN pe modelul spitalului multiprofil, determinat gradul de antibiotic-sensibilitate/ rezistență a microorganismelor-agenți cauzali ai ISPN. Au fost elucidate particularitățile evolutive a structurii etiologice și antibiotic-sensibilității/ rezistenței în ISP în dinamica multianuală, cu ajutorul programului WHONET.

Problema științifică soluționată. A fost elaborat un sistem funcțional de monitoring a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării: A fost implementat sistemul computerizat de monitoring a antibioticorezistenței în baza programului WHONET la nivel de instituție medicală multiprofil, ceea ce a permis de a crea baza de date cu analiza lor ulterioară privitor la specificul agenților etiologici în ISP și sensibilitatea/rezistența lor față de antibiotice.

Implementarea practică a rezultatelor:

Rezultatele studiului au fost implementate în cadrul Institutului de Medicină Urgentă, precum și la catedra Epidemiologie ca material didactic pentru instruirea universitară, cât și postuniversitară a medicilor.

9. Prisacari V., **Berdeu I.** Antibiotice rezistență / sensibilitatea microorganismelor în infecțiile septico-purulente de profil neurochirurgical. În Anale Științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2012, vol. II, p. 25-29. ISSN: 1857-1719. Categoria C.

Teze la conferințe științifice naționale cu participare internațională:

10. Prisacari V., **Berdeu I.** Antibiotice rezistență / sensibilitatea agenților cauzali în infecțiile septico-purulente urologice. În Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2012, nr. 2, p. 70-71. ISSN: 1729-8687. Categoria B.

11. **Berdeu I.** Antibiotice rezistență / sensibilitatea agenților cauzali în infecțiile septico-purulente din secția de chirurgie maxilo-facială. În Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2012, nr. 2, p. 71. ISSN: 1729-8687. Categoria B.

12. **Berdeu. I.** Antimicrobial resistance/sensibility of microorganisms mostly involved in the etiology of septic-purulent infections. În MedEspera 2014: 5th International Medical Congress for Students and Young Doctors. Chișinău, 2014, p. 264-265. ISSN: 978-9975-56-160-0.

CONȚINUTUL TEZEI INTRODUCERE

Compartimentul „Introducere” descrie actualitatea și importanța problemei abordate, scopul și obiectivele cercetării, noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, aprobarea rezultatelor și sumarul compartimentelor tezei.

1. ACTUALITATEA ÎN DOMENIUL ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ȘI A PROBLEMEI MONITORIZĂRII ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN INFECȚIILE SEPTICO-PURULENTE NOSOCOMIALE

Capitolul 1 este dedicat revizuirii literaturii și este structurat în 5 subcapitole și conține analiza materialelor științifice. Sunt expuse problemele privind antibiotice rezistență microbiană, căile de obținere a rezistenței la antibiotice de către microorganisme, particularitățile etiologice și antibiotice rezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente. De asemenea a fost cercetată problema monitoringului antibiotice rezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente, dar și măsuri privind optimizarea sistemului de monitorizare a antibiotice rezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente. Au fost stabilite principalele măsuri cu privire la monitorizarea antibiotice rezistenței microbiene, dar și cu privire la mecanismele de diminuare a rezistenței la antibiotice.

2. MATERIALELE ȘI METODELE DE CERCETARE

2.1 Caracteristica generală a lotului de investigație

În acest capitol sunt descrise materialele și metodele de cercetare utilizate în studiu, metodele epidemiologice utilizate pentru analiza datelor, metodele statistice de prelucrare a datelor obținute. Această lucrare științifică se referă la studiile epidemiologice transversale realizate în perioada anilor 2010 și 2013.

Tulpinile de microorganisme au fost izolate de la pacienții cu ISP internați în cadrul Institutului de Medicină Urgentă și testate cu privire la antibiotice rezistență/sensibilitate în cadrul laboratorului microbiologic al aceiași instituții.

În total au fost analizate 6978 tulpini de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu. Inclusiv 5886 tulpini au fost supuse studierii antibiotice rezistenței / prin utilizarea metodei disc-difuzimetrică (Kirby-Bauer), iar 1092 tulpini cu ajutorul analizatorului microbiologic automat VITEK 2 Compact.

2.2. Metodele de cercetare aplicate în studiu

Metodele microbiologice

Au fost utilizate 2 metode de testare a sensibilității/rezistenței la antibiotice a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP, metoda difuzimetrică și metoda diluțiilor.

Antibiograma difuzimetrică calitativă (metoda Kirby-Bauer).

Această metodă se bazează pe două fenomene care se produc concomitent: difuzarea antibioticului și creșterea bacteriei. În zonele unde antimicrobianul realizează concentrații mai mari decât concentrația minimă inhibitoare (CMI), bacteria nu crește. Astfel diametrul zonei de inhibiție variază invers proporțional cu CMI. În lumina reflectată, pe fond negru mat, diametrul zonelor de inhibiție completă

se măsoară cu șublerul sau rigla gradată în mm. Bacteria testată este clasificată în categorii de sensibilitate: sensibilă, intermediară sau rezistentă, prin raportarea diametrelor de inhibiție la tabelul interpretativ standard.

Antibiograma cantitativă: metoda diluțiilor.

Metoda este folosită în sistemul automat VITEK 2 Compact (bioMérieux), care permite identificarea bacteriana și testarea sensibilității la antibiotice a bacteriilor, fungilor izolate din prelevate clinice, industrie și mediu. Pentru 95% din bacteriile uzuale, identificarea se realizează în 6 ore, iar antibiograma pentru 80% din bacteriile uzuale se realizează în 7 ore. Automatizarea integrală a procedurii oferă un plus de securitate datorită eliminării tuturor manevrelor repetitive. Corectitudinea identificării este de peste 96% pentru toate tipurile de bacterii. Acuratețea rezultatelor obținute folosind această metodă conferă eficacitate tratamentului prin identificarea enzimelor inhibitorii ale antibioticelor și numărul mare de antibiotice testate simultan. Sistemul dispune de carduri pentru microorganismele gramnegative (GN-21341), grampozitive (GP-21342), fungi (YST-21343), bacterii anaerobe și corinebacterii (ANC-21347) și pentru *Neisseria-Haemophilus* (NH-21346).

Sistemul VITEK 2 Compact permite de a detecta o serie de fenotipuri de rezistență a microorganismelor, de exemplu: ESBL (Beta-lactamazele cu spectru larg), MRSA, Screening pentru VRSA (*Staphylococcus aureus* rezistent la vancomicină), rezistență indusă la clindamicină, ș.a.

Metodele epidemiologice au fost folosite pentru a descrie și calcula gradul și tendințele antibioticorezistenței microbiene, pentru detectarea evenimentelor microbiologice noi (noi tipuri de rezistență, nivele noi de rezistență). Studiul dat se referă la studiile epidemiologice transversale realizate în perioada anilor 2010 și 2013.

De asemenea s-au aplicat metodele epidemiologice de supraveghere a nivelului antibioticorezistenței microbiene a fiecărei specii de microorganisme, din fiecare secție în parte, cât și la nivel de instituție medicală.

Metode statistice de prelucrare a datelor obținute

Rezultatele obținute au fost introduse în baze de date electronice și prelucrate statistic cu ajutorul programelor computerizate WHONET 5.6 și Microsoft Office Excel 2010.

Programul WHONET. A fost folosit pentru a forma baza de date privitor la tulpinile de microorganisme izolate de la fiecare pacient diagnosticat cu o infecție septico-purulentă. În baza de date au fost incluse și datele privind sensibilitatea / rezistența la antibiotice a microorganismelor izolate testate atât prin metoda disc-difuzimetrică, cât și cu analizatorul microbiologic automat VITEK 2 Compact.

Testele statistice utilizate au fost: Intervalul de încredere (CI 95%) și criteriul t student.

Intervalul de încredere cu probabilitatea de 95% a fost determinat pentru procentajul rezistenței cu utilizarea metodei exacte Clopper-Pearson pentru datele binomiale.

Criteriul t student a fost folosit pentru compararea a 2 exprimări procentuale.

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

Articole în reviste din străinătate recunoscute:

1. Prisacari V., **Berdeu I.** Antimicrobial resistance in septic-purulent infections. În The medical- surgical journal. Iași, România. Iași, România, 2013, vol. 117, nr. 2, p. 457-464. ISSN: 0048-7848.

2. **Berdeu I.C.**, Присакарь В.И. Видовой состав и антибиотикорезистентность возбудителей гнойно-септических инфекций в многопрофильной больнице. В Медицина в Кузбассе. Кемерово, Россия, 2013, том XII, N. 2, с. 38-42. ISSN: 1819-0901.

Articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:

3. Prisacari V., **Berdeu I.** Problema antibioticorezistenței microbiene. În AKADEMOS, Revista de știință, inovare, cultură și artă. Academia de Științe a Moldovei. Chișinău, 2014, nr. 1(32), p. 92-100. ISSN 1857-0461. Categoria B.

4. Prisacari V., **Berdeu I.** Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor în infecțiile septico-purulente pe modelul secțiilor de anesteziologie, terapie intensivă și reanimare. În Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale. Chișinău, 2012, nr. 1(33), p. 121-126. ISSN: 1857-0011. Categoria B.

5. **Berdeu I.**, Prisacari V. Structura etiologică și comparativă a rezistenței antimicrobiale a microorganismelor izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente tratate în spitale și alte instituții medicale. În Curierul Medical. Chișinău, 2013, vol. 56, nr. 5, p. 144-147. ISSN: 1857-0666. Categoria B.

6. **Berdeu I.**, Prisăcaru I. Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor în infecțiile septico-purulente pe modelul secțiilor de chirurgie aseptică și septică. În Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2011, vol. II. p. 19-27. ISSN: 1857-1719. Categoria C.

7. **Berdeu I.**, Prisăcaru I. Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor în infecțiile septico-purulente pe modelul secțiilor de traumatologie aseptică și septică. În Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2011, vol. II. p. 27-36. ISSN: 1857-1719. Categoria C.

8. **Berdeu I.** Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor în infecțiile septico-purulente de profil neurologic și boli cerebrovasculare. În Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2012, vol. II, p. 30-35. ISSN 1857-1719. Categoria C.

17. Priscari V., Leu E. Antibioticorezistența microorganismelor în infecțiile septico-purulente de profil neurochirurgical. Anale științifice USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. 2, Chișinău, 2008, p. 23-29.
18. Ețco L., Marin S., Railean L., Anton L., Marin A. Bazele supravegherii rezistenței la antibiotice a microorganismelor și organizarea sistemului conceptual de utilizare a preparatelor antibacteriene. Sănătate Publică și Management în Medicină, 2008, Nr. 2 (24), p. 41-45.
19. Priscari V., Berdeu I. Antimicrobial resistance in septic-purulent infections. The medical- surgical journal. Iași, România, 2013, Vol. 117, N. 2, p. 457-464.
20. Priscari V., Spătaru D. Antibioticorezistența / sensibilitatea în infecțiile septico-purulente nosocomiale de profil ortopedo-traumatologic. Curierul Medical, 2013, Vol. 56, Nr. 6, p. 99-106.
21. Burduniuc O. Problema rezistenței E. Coli, implicată în patologia urinară. Curierul Medical, 2010, N.3(315), p.48-50.
22. Paraschiv A. Epidemiologia infecțiilor septico-purulente nosocomiale la etapa contemporană. Teză de doctor în medicină. Chișinău, 2007. 130 p.
23. O. Burduniuc. Perfecționarea diagnosticului microbiologic pentru detectarea unor markeri ai rezistenței enterobacteriilor la antibiotice. Teză de doctor în medicină, Chișinău, 2013. 185 p.
24. Hawser S., author. Surveillance programmes and antibiotic resistance: Worldwide and regional monitoring of antibiotic resistance trends. Antibiotic Resist. 2012;211:31-43.
25. Daneman, N., D. E. Low, A. McGeer, K. A. Green, and D. N. Fisman. 2008. At the threshold: defining clinically meaningful resistance thresholds for antibiotic choice in community-acquired pneumonia. Clin. Infect. Dis. 46: 1131-1138.
26. Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2012.
27. Bissell, M. G. 1999. The effect of benchmarking clinical practice with the clinical laboratory. An institutional case study. Clin. Lab. Med. 19:867-876.
28. Fridkin, S. K., et al. 2002. Monitoring antimicrobial use and resistance: comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and vancomycin-resistant enterococci. Emerg. Infect. Dis. 8:702-707.
29. Priscari V., Sava V., Plop. T. Infecția supurativă – aspecte epidemiologice. Materialele conferinței științifice a colaboratorilor și studenților. USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 1999, p. 195.

3. REZULTATELE STUDIULUI ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN BAZA PROGRAMULUI COMPUTERIZAT WHONET

3.1. Implementarea programului computerizat WHONET în monitorul antibioticorezis-tenței microbiene la nivel de instituție medicală.

Pentru realizarea sistemului de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală a fost folosit programul computerizat WHONET 5.6, recomandat de către WHO Collaborating Centre for Surveillance of Antimicrobial Resistance (OMS; Centrul de Supraveghere a Antibioticorezistenței Microbiene).

Pentru a putea fi utilizat în condițiile IMPS IMU – instituție medico-sanitară multiprofil, a fost nevoie de a configura programul WHONET. Au fost selectate antibioticele utilizate în determinarea sensibilității/rezistenței tulpinilor izolate, standardul (CLSI, EUCAST) și metoda de efectuare a antibioticogramei, de asemenea au fost incluse și secțiile și departamentele spitalului în meniu (fig.1). Pentru a introduce rezultatele investigațiilor microbiologice în programul de monitorizare, a fost creat un fișier care include datele personale ale pacienților; date privind secția și departamentul în care au fost internați; date cu privire la proba recepționată; datele testării la antibiotice a tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienți, conform metodei aplicate: disc-difuzimetrică, MIC (concentrația minimă inhibitoare), E-test.

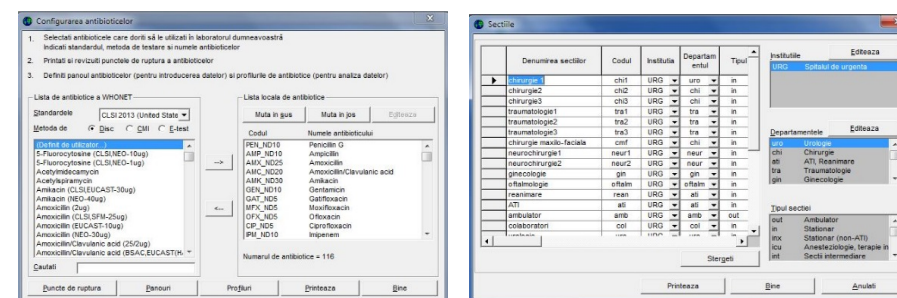


Fig. 1. Meniul de monitorizare a sensibilității/rezistenței agenților cauzali ai ISP

La salvarea datelor, pot fi înregistrate (fixate) alerte microbiologice, informații privind prezența unor enzime de rezistență la antibiotice, fenotipuri excepționale și care au scop de a oferi sfaturi cu privire la testarea suplimentară a tulpinii sau trimiterea ei către un laborator de referință pentru cercetări mai aprofundate.

După introducerea și salvarea datelor, obținem baza de date cu privire la toate investigațiile microbiologice efectuate. Baza de date include informațiile personale despre pacienți, secția și departamentul în care au fost internați, data efectuării analizei, tipul materialului patologic, microorganismul izolat și antibioticele la care au fost testate. Informațiile pot fi vizualizate în orice moment sub formă de tabel, cu posibilitatea de a edita izolatele în caz de greșeli (fig. 2).

Introducerea datelor: D:\WHONET\Data\Analize2014.urg										
Editeaza izolatul		Editeaza tabel	Sterge	Gaseste	Inlocuieste	Printeaza	Continua			
	Numerul de identificare	Microorganismul	AMX_ND25	AMC_ND20	AMK_ND30	GEN_ND10	GAT_ND5	MPX_ND5	OFX_ND5	CIP_ND5
15	kpn		6	20	6					6
12	spy	28	31							6
37	eco		6	18	6					6
8	pml		27	18	17					30
4	pae			14	6					6
5	kpn			19	6					6
30	ac-			6	6					8
17	efa	35	35							
30	pae			17	15					15
31	ac-			6	8					18
31	pae			17	15					15
29	pae			17	15					15
49	kpn			18	6		14			6
43	efa	6	6							
45	pae			6	6		17			8
45	efm	25	25							
46	pae			6	6		15			6
46	kpn			17	8		15			21

Fig. 2. Baza de date privitor la investigațiile microbiologice efectuate în instituție.

Baza de date obținută oferă posibilitatea de a efectua o analiză rapidă și corectă cu privire la microorganismele izolate, rezistența/sensibilitatea lor față de antibiotice. Putem obține lista microorganismelor izolate, numărul de tulpini și ponderea lor.

Rezultatele analizei																			
Fisier		Editeaza Date																	
Copie tabelul		Copie figura	Printeaza tabelul	Printeaza figura	Continua	Microorganism = Toate microorganismele (n=1946 Tulpini)													
Sectia: amb, sato1, sato2, sato3 Exclude		Araza coloanele ascunse																	
	Codul	Numele antibioticului	Puncte de ruptura	Numerul	%R	%I	%S	%MS	%R 95 C.I.	Numerul	6	7	8	9	10	11	12	13	14
▶	AMK_ND10	Penicilin G	20 - 27	317	43.2	5.7	51.1		37.7-48.9	317	33.1		3.2	2.5			1.6	0.3	0.6
	AMP_ND10	Ampicilin	19 - 25	81	80.3	4.9	14.8		67.7-89.0	81	62.3		8.2	3.3					
	AMK_ND25	Amoxicilin	14 - 17	570	42.1	3.2	54.7		38.6-46.3	570	38.9		1.8	0.2			0.7	0.7	0.7
	AZL_ND75	Aztreonam	S >= 18	1	100	0	0		5.5-100	1	100								
	ATM_ND30	Ticarcilin		190	77.4	3.2	19.5		70.7-83.0	190	72.1		2.6	0.5			1.1	0.5	0.5
	OXA_ND1	Oxacilin	S >= 18	553	36.7	0.9	62.4		32.7-40.9	553	30.6		4.7	1.4			0.9	1.1	1.4
	AMC_ND20	Amoxicilin/Cloxacilic acid	14 - 17	469	24.9	2.8	72.3		21.1-29.1	469	20.9		2.1	0.2			1.3	0.4	0.4
	CZO_ND30	Cefazolin	20 - 22	882	50.6	5.8	43.7		47.2-53.9	882	32.5		1.6	0.2			0.7	0.2	0.2
	COP_ND75	Cloxaciline	16 - 20	200	74	3	23		67.2-79.8	200	70.5		2				0.5		
	COM_ND30	Cefuroxim	15 - 17	365	32.3	0.3	67.4		27.6-37.4	365	16.4		1.6						0.5
	MAN_ND30	Cefamandol	15 - 17	3	33.3	0	66.7		1.8-87.5	3									
	CAZ_ND30	Ceftazidime	18 - 20	899	54	9.5	36.4		50.6-57.4	899	43.8		4.4	0.8			0.8	0.7	0.3
	CBD_ND30	Ceftazidime	25 - 26	537	64.2	3.5	32.3		60.6-68.2	537	66.8		3.4	0.7			0.6		0.7
	CTX_ND30	Cefotaxime	26 - 27	468	55.1	10.7	34.2		50.5-59.7	468	41.5		3.2	1.3			1.9		0.6
	PEP_ND30	Cefepime	22 - 23	517	47	3.3	47.2	2.5	45.1-53.9	517	39.5		4.4	0.8			0.4	0.4	0.4
	FOX_ND30	Cefotaxime	15 - 17	10	20	0	80		3.5-95.6	10	20								
	CEC_ND30	Cefaclor	15 - 17	316	63.3	6.8	30.1		57.7-68.6	316	47.5		7.3	0.3			2.8	0.3	1.3
	CFM_ND5	Cefixime	16 - 18	661	72.3	5.4	22.2		68.7-75.6	661	58.5		7.1	0.2			2.3	0.3	0.5
	LEP_ND30	Cephalexin	15 - 17	718	32.2	1.1	66.7		28.6-35.8	718	16.3		2.9				1.1		0.6
	ATM_ND30	Acetaminofen	18 - 20	204	67.2	12.3	20.6		60.2-73.5	204	51.5		5.9	3.4			1.5		1.5

Fig. 3 Ponderea probelor rezistente, intermediare și sensibile a antibioticelor la care au fost testate microorganismele izolate de la pacienții cu ISP

Analiza poate fi efectuată în dependență de mai multe criterii: tipul microorganismelor; tipul materialului patologic; tipul antibioticului; secții, departamente; lunile anului, ani; datele personale ale pacienților: vârstă, sex, nume/prenume, ș.a.; diagnosticul clinic; alte criterii. Analiză este afișată în formă de tabel, unde primele două coloane sunt codul și numele antibioticului, apoi criteriile de interpretare a rezultatelor, numărul de probe pentru fiecare antibiotic, urmate de trei coloane cu procentajul rezistenței, sensibilității, rezistenței pentru fiecare antibiotic testat. Coloana %R 95% C.I. reprezintă intervalul de încredere calculat pentru procentajul rezistenței conform formulei Wilson cu corecție continuă. Următoarele coloane conțin informații despre ponderea probelor fiecărei zone de sensibilitate din total (fig. 3).

Programul WHONET poate fi utilizat și pentru calcularea antibioticorezistenței/sensibilității microbiene și pentru grupele de antibiotice. Acest tip de analiză a fost

4. Este necesar de a completa un set de test-antibiotice privind determinarea sensibilității/ rezistenței microorganismelor cu scopul de face comparabile datele obținute în perioade diferite de timp, conform metodologiei EUCAST.

BIBLIOGRAFIE

1. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. CDC, p. 5
2. Davies J., Davies D. : Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and molecular biology reviews, 2010, p. 417-433
3. Prisacari V. Rezistența la antibiotice. Ghid de supraveghere și control în infecțiile nosocomiale. Ed. II, Chișinău, 2009, p. 182-194.
4. Norrby SR, Nord CE, Finch Roger. Lack of development of new antimicrobial drugs: a potential serious threat to public health. Lancet Infect Dis. 2005;5, p.115-119.
5. Walsh C. Antibiotics: actions, origins, resistance. Washington, DC: ASM Press; 2003.
6. Mascaretti OA. Bacteria versus antibacterial agents an integrated approach. Washington, DC: ASM Press; 2003. p. 87-95.
7. Zoutman DE, Ford BD. The relationship between hospital infection surveillance and control activities and antibiotic-resistant pathogen rates. Am J Infect Control. 2005;33(1), p. 1-5.
8. Blot S, Depuydt P, Vandewoude K, De Bacquer D: Measuring the impact of multidrug resistance in nosocomial infection. Curr Opin Infect Dis 2007, 20, p. 391-396.
9. Титов Л.П. Антибиотикорезистентность бактерий: Потребление анти-микробных препаратов, ассоциация с резистентностью и виру-лентностью. Матер. Респ. науч.-практич. конф. «Профилактика и лечение госпитальных инфекций. Резистентность микроорганизмов к химиопрепаратам. Минск, 2006, с. 7-17.
10. Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union. November 2013, p. 2-3, 5-6, 8 - 10.
11. World Health Assembly resolution WHA37.33 on the rational use of drugs. Geneva, World Health Organization, 1984.
12. World Health Assembly resolution WHA51.17 on emerging and other communicable diseases: antimicrobial resistance. Geneva, World Health Organization, 1998.
13. World Health Assembly resolution WHA54.11 on WHO medicines strategy. Geneva, World Health Organization, 2001.
14. World Health Assembly resolution WHA58.27 on improving the containment of antimicrobial resistance. Geneva, World Health Organization, 2005.
15. Ivan A. Antibioticorezistența antibacteriană – problemă majoră de sănătate populațională, mereu actuală. Revista medico-chirurgicală. Iași, 2002, Nr 1, p. 31-32.
16. Prisacari V. Problema infecțiilor nosocomiale. Curierul medical, 2005, Nr. 3, p. 47-52.

secțiile de chirurgie generală, anesteziologie, reanimare și terapie intensivă, urologie, microchirurgie și neurochirurgie predomină microorganismele gramnegative (53,92 – 65,08%).

- Un nivel mai înalt de rezistență la antibiotice s-a determinat la microorganismele gramnegative – 61,66%, comparativ cu cele grampozitive – 40,25%. Din microorganismele grampozitive, un nivel de rezistență mai înalt manifestă tulpinile de *E. faecalis* – 58,86% și *S. epidermidis* – 43,90%, iar din cele gram-negative - *Acinetobacter* sp. – 87,13%, *P. rettgeri* – 83,40%, *P. mirabilis* – 64,68%, *K. pneumoniae* – 73,35%, *P. aeruginosa* – 60,0%.
- În funcție de grupul antibioticilor, microorganismele izolate au manifestat rezistență mai înaltă față de peniciline (65,40%), cefalosporine (79,40%) și sensibilitate mai înaltă față de peneme (78,90%), aminoglicozide (63,30%) și lincomicine (60,0%).
- Structura etiologică a ISP la pacienții cu tratament în staționar este mai variată comparativ cu aceiași la pacienții cu tratament ambulatoriu – de la care au fost izolate 44 și 33 specii, respectiv. Gradul de rezistență a tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții din staționar a fost mult mai înalt decât la cei tratați ambulatoriu, diferența fiind confirmată statistic ($t=16,33$, $p<0,05$).
- Metoda automatizată s-a dovedit a fi mai sensibilă privitor la determinarea speciilor de microorganisme, fiind identificate pe parcursul anului 2013 76 specii de microorganisme - agenți cauzali ai ISP, comparativ cu 52 specii identificate în aceeași perioadă cu metoda manuală.
- În dinamica multianuală s-a constatat o lărgire a spectrului de agenți cauzali ai infecțiilor septico-purulente nosocomiale, de la 25 specii de microorganisme în anul 1997, până la 51 specii în anul 2010 și 99 – în anul 2013. Ponderea microorganismelor gram-pozitive în structura etiologică a ISP, s-a micșorat de la 65,66% în anul 1997 până la 41,70% în anul 2013, și invers este în creștere ponderea microorganismelor gram-negative - de la 33,90% în anul 1997 până la 56,50% în anul 2013.

RECOMANDĂRI

- Pentru eficientizarea supravegherii epidemiologice a antibioticorezistenței microbiene se recomandă de a implementa în fiecare instituție medicală sistemul automatizat de monitoring microbiologic.
- Colectarea, analiza și interpretarea continuă și sistematică a datelor privind nivelul de rezistență /sensibilitate la antibiotice pot fi utilizate atât în tratamentul electiv al pacienților, cât și în crearea Ghidului cu privire la tratamentul pacienților cu ISP, prin implementarea unei strategii de rotație a antibioticilor, măsuri esențiale și în controlul circulației microorganismelor polirezistente la antibiotice. Pentru atingerea scopului este necesar ca antibioticele cu spectru larg de acțiune să fie folosite doar ca tratament empiric, iar după obținerea antibioticogramei să fie administrat un antibiotic cu spectru îngust.
- Implementarea regulilor expert privind testarea sensibilității la antibiotice, luând în considerație rezistența naturală față de unele antibiotice a microorganismelor, cât și reguli de interpretare a antibioticogramei.

efectuată pentru fiecare specie de microorganisme, dar și pentru anumite grupe de microorganisme, secții și pentru a evalua situația la nivel de staționar.

O altă componentă a programului WHONET este BacLink-ul, care permite de a converti fișierele cu date create cu ajutorul altor programe. Prin convertirea fișierelor în formatul programului WHONET putem beneficia de 2 avantaje: 1. flexibilitatea analizei datelor; 2. capacitatea de a face schimb de date cu alte laboratoare sau cu un laborator de referință.

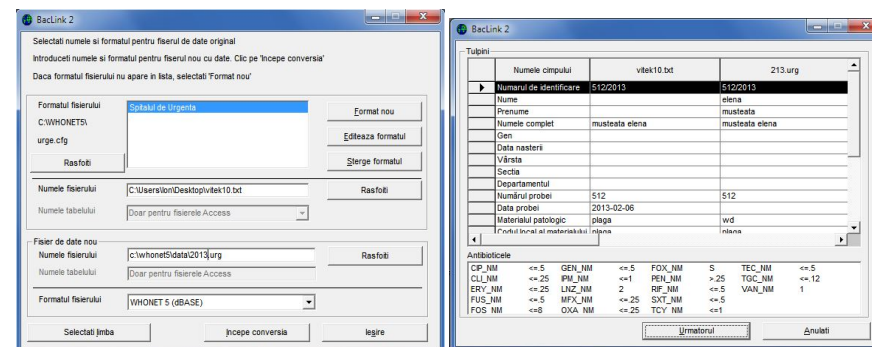


Fig. 4. Fereastra BackLink și conversia datelor cu formarea bazei de date.

Acest element ne-a permis de a organiza exportarea datelor obținute în analizatorul microbiologic automat VITEK 2 Compact pentru perioada dorită de timp, cu analiza lor ulterioară în programul WHONET (fig. 4). Datele importate în programul WHONET au format o altă bază de date ce conține toate informațiile despre pacienți și tulpinile izolate și testate la antibiotice, atât după metoda clasică, cât și automatizată. Baza de date obținută e asemănătoare cu cea obținută în urma introducerii manuale a datelor și pot fi aplicate toate opțiunile de mai sus pentru a efectua o analiză detaliată a datelor. Așadar, cu ajutorul programului WHONET a fost posibil de a efectua o analiză combinată a ambelor baze de date obținute atât cu metoda disc-difuzimetrică, cât și cu analizatorul microbiologic automat VITEK 2 Compact (fig. 5).

Rezultatele analizei										
Fișier	Editează	Date								
Copie tabelul	Copie figura	Printează tabelul	Printează figura	Continuă	Microorganism = Toate microorganismele					
Sectia: sato, sato1, sato2, sato3, amb Exclude					☐ Arată coloanele ascunse					
	Codul	Numele antibioticului	Laborator	Numele fișierului	Puncte de ruptură	Numarul	%R	%I	%S	%NS
▶	AMC_ND20	Amoxicilin/Clavulanic acid	URG	analize_2013.urg	14 - 17	469	24,9	2,8	72,3	21,1-29,1
	AMC_ND	Amoxicilin/Clavulanic acid	URG	vitek4.urg	S=8 R=32	11	61,8	9,1	9,1	47,7-96,8
	AMK_ND30	Amikacin	URG	analize_2013.urg	15 - 16	928	33,2	5,3	61,5	30,2-36,3
	AMK_ND	Amikacin	URG	vitek4.urg	S=16 R=64	618	13,3	3,9	82,5	10,8-16,3
	AMP_ND10	Ampicilin	URG	analize_2013.urg	19 - 25	61	80,3	4,9	14,8	67,7-89,0
	AMP_ND	Ampicilin	URG	vitek4.urg	S=8 R=32	642	79,4	2	18,4	76,2-82,6
	AMK_ND25	Amoxicilin	URG	analize_2013.urg	14 - 17	570	42,1	3,2	54,7	38,0-46,3
	ATM_ND30	Aztreonam	URG	analize_2013.urg	18 - 20	204	67,2	12,3	20,6	60,2-73,5
	ATM_ND	Aztreonam	URG	vitek4.urg	S=4 R=16	4	50	0	50	9,2-90,8
	AZL_ND75	Azlocilin	URG	analize_2013.urg	S=18	1	100	0	0	5,5-100
	AZL_ND15	Azithromycin	URG	analize_2013.urg	14 - 17	825	36,6	2,5	60,8	33,3-60,0
	CAZ_ND30	Ceftazidime	URG	analize_2013.urg	18 - 20	859	54	9,5	36,4	50,6-57,4
	CAZ_ND	Ceftazidime	URG	vitek4.urg	S=4 R=16	709	51,2	2,3	46,5	47,5-54,9
	CEC_ND30	Cefaclor	URG	analize_2013.urg	15 - 17	316	63,3	6,6	30,1	57,7-68,6
	CFM_ND5	Ceftixime	URG	analize_2013.urg	18 - 19	661	72,3	5,4	22,2	68,7-75,6
	CFP_ND75	Cefoperazone	URG	analize_2013.urg	18 - 20	200	74	3	23	67,2-79,8
	CHL_ND30	Chloramphenicol	URG	analize_2013.urg	18 - 20	223	43	9,9	47,1	36,5-49,8

Fig. 5. Analiza combinată a datelor obținute cu ajutorul a 2 metode (disc-difuzimetrică și analizatorul VITEK 2 Compact)

Spre deosebire de tabelele cu date analizate obținute în rezultatul la analizei unui singur fișier, programul dispune de o coloană în plus care specifică metodele folosite în studiu. De asemenea e posibilă analiza comparativă, într-un singur tabel, a datelor obținute cu ajutorul a mai multe metode sau a celor obținute în ani diferiți.

3.2. Rezultatele studiului antibioticorezistenței/sensibilității microorganismelor izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente tratați în staționar

În rezultatul studiului transversal efectuat pentru anul 2010 s-a constatat că cele 3940 tulpini de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP aparțin la 51 specii de microorganisme, fapt ce demonstrează caracterul polietilologic pronunțat al acestei patologii. Au predominat microorganismele gram-pozitive - 56,78% din totalul de tulpini izolate, comparativ cu microorganismele gram-negative - 41,22%. Din grupul microorganismelor gram-pozitive au predominat *S. epidermidis* - 37,77%, *S. aureus* - 30,00%, *E. faecalis* - 18,28% și *S. pyogenes* - 5,41%. Din microorganismele gram-negative au predominat *E. coli* - 27,03%, *P. aeruginosa* - 15,70%, *K. pneumoniae* - 13,00%, *Acinetobacter* sp. - 7,45% și *E. cloacae* - 6,47% (fig. 6).

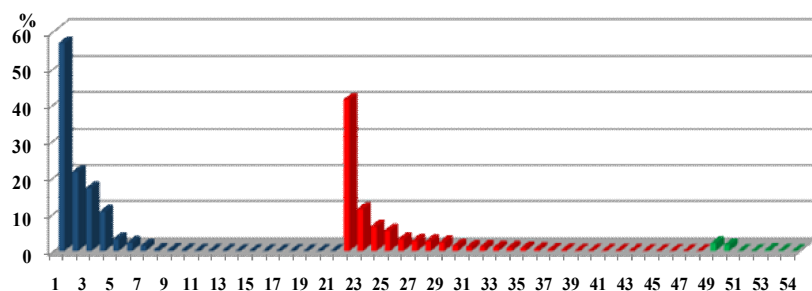


Fig. 6. Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU (an. 2010)

1) Total tulpini microorganisme grampozitive; 2) *S. epidermidis*; 3) *S. aureus*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. pyogenes*; 6) *S. mutans*; 7) *S. viridans*; 8) *E. faecium*; 9) *P. alvei*; 10) *S. haemolyticus*; 11) *B. megaterium*; 12) *B. subtilis*; 13) *B. cereus*; 14) *S. intermedius*; 15) *S. mitis*; 16) *S. salivarius*; 17) *C. pseudodiphtheriticum*; 18) *C. pseudotuberculosis*; 19) *B. firmus*; 20) *B. laterosporus*; 21) *M. alvei*; 22) Total tulpini microorganisme gramnegative; 23) *E. coli*; 24) *P. aeruginosa*; 25) *K. pneumoniae*; 26) *Acinetobacter* sp.; 27) *E. cloacae*; 28) *E. aerogenes*; 29) *P. mirabilis*; 30) *C. freundii*; 31) *P. rettgeri*; 32) *P. vulgaris*; 33) *M. morganii*; 34) *S. marcescens*; 35) *K. oxytoca*; 36) *N. perflava*; 37) *P. alcalifaciens*; 38) *C. diversus*; 39) *N. sicca*; 40) *B. cepacia*; 41) EHEC; 42) *N. flavescens*; 43) *S. liquefaciens*; 44) *N. mucosa*; 45) *P. fluorescens*; 46) *S. entomophila*; 47) *S. rubidaea*; 48) *S. maltophilia*; 49) Total tulpini fungi; 50) *C. albicans*; 51) *C. krusei*; 52) *C. tropicalis*; 53) *C. guilliermondii*; 54) *C. pseudotropicalis*; 54) *M. alvei*.

În funcție de profilul staționarului, structura etiologică a ISP, s-a dovedit a fi de asemenea variată. În staționarele de profil traumatologic, chirurgie maxilo-facială, neurologie și boli cerebro-vasculare în structura etiologică a ISP au predominat microorganismele gram-pozitive (52,38%, 72,69%, 94,57%, 69,33% - respectiv). În cele de chirurgie generală (aseptică și septică), anesteziologie, reanimare și terapie intensivă, urologie, microchirurgie și neurochirurgie predomină microorganismele gramnegative - 56,92%, 53,22%, 65,08%, 54,55%, 62,96%, 55,77% - respectiv.

În rezultatul analizei sensibilității / rezistenței tulpinilor decelate față de antibiotice s-a constatat, că suma totală a probelor de testare față de diferite antibiotice a

antibiotice. În anul 2010, microorganismele gram-negative au fost sensibile în 38,34% și rezistente în 61,66%, iar în anul 2013 au fost sensibile în 43,90% și rezistente în 56,10%.

4.3. Optimizarea principiilor de achiziționare și utilizare rațională a antibioticelor

Utilizarea antibioticelor e privită ca un factor cheie privind emergența rezistenței bacteriilor. Impactul utilizării iraționale, inclusiv dozarea necorespunzătoare și aderența slabă la tratament, potențial sunt la fel de importante ca consumul exagerat. Aceste lucruri dictează necesitatea organizării unui sistem eficient de supraveghere epidemiologică privind antibioticorezistența microbiană, achiziționarea și consumul rațional al antibioticelor. Îndeosebi la nivelul local este necesar de a cunoaște situația epidemiogenă locală, atât la nivel de instituție medicală, cât și din fiecare secție, departament, cu privire la microorganismele identificate, nivelul rezistenței lor la antibiotice, cât și a consumului de antibiotice.

Un element important în optimizarea supravegherii antibioticorezistenței microbiene este implementarea sistemului automatizat WHONET, care permite de a crea baza de date cu privire la microorganismele identificate, rezistența/sensibilitatea lor la antibiotice, cu analiza ulterioară a datelor.

Datele obținute în urma monitorizării antibioticorezistenței microbiene pot fi folosite pentru conștientizarea problemei și oferă informație pentru acțiune. Astfel se va spori interesul administrației instituției medicale, a epidemiologilor de spital, microbiologilor, personalului farmaciilor, medicilor implicați în prescrierea antibioticelor. Datele cu privire la sensibilitate rezistență a microorganismelor izolate și testate în cadrul instituției vor fi folosite și pentru achiziționare rațională a antibioticelor.

CONCLUZII GENERALE

1. Utilizarea programului computerizat WHONET ne-a permis de a crea baza de date cu privire la microorganismele implicate în etiologia ISP, rezistența /sensibilitatea lor la antibiotice, cu analiza lor ulterioară. Importul și conversia datelor în programul WHONET face posibilă analiza separată a datelor obținute prin acest sistem, cât și analiza combinată a datelor obținute prin mai multe metode investigative.
2. În rezultatul studiului s-a constatat că infecțiile septico-purulente nosocomiale se caracterizează prin polimorfism etiologic și rezistență sporită la antibiotice. Predomină microorganismele gram-pozitive (56,78%), în comparație cu microorganismele gram-negative - 41,22%, fungii constituind - 2,01%. În structura etiologică generală a ISP predomină *S. epidermidis* - 21,45%, *S. aureus* - 17,03%, *E. coli* - 11,14%, *E. faecalis* - 10,38%, *K. pneumoniae* - 5,36%, *P. aeruginosa* - 6,47%, *Acinetobacter* sp. - 3,07% și *Proteus* spp. - 4,5%, ponderea cărora constituie 79,85% din totalul de tulpini izolate de la pacienții cu ISP.
3. Structura etiologică a ISP s-a dovedit a fi variată în funcție de profilul secției. În secțiile de profil traumatologic, chirurgie maxilo-facială, neurologie și boli cardiovasculare predomină microorganismele grampozitive (52,58% - 94,57%). În

Spre deosebire, microorganismele testate prin metoda manuală s-au dovedit a fi mai rezistente la peneme (32,16%), decât cele testate cu sistemul V2C (17,14%). Față de ansamicine, atât tulpinile testate prin metoda manuală, cât și cele testate cu sistemul V2C au manifestat o sensibilitate sporită – 81,50% și 84,10%, respectiv.

Diferențele dintre nivelurile de rezistență ale tulpinilor testate prin metoda manuală și cele testate cu sistemul V2C, se datorează faptului că metoda automatizată este mult mai specifică. Metoda automatizată determină concentrația minimă inhibitoare la care microorganismele testate sunt sensibile/rezistente, însă metoda disc-difuzimetrică folosește discuri cu concentrații fixe de antibiotice. De asemenea cu metoda automatizată se exclud erorile tehnice care pot influența rezultatul.

4.2. Evoluția antibioticorezistenței microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP în dinamica multianuală.

Analiza comparativă a rezultatelor unui studiu asemănător efectuat anterior privitor la structura agenților cauzali ai ISP în aceeași unitate spitalicească [19,29], și a rezultatelor studiilor realizate de noi pentru anii 2010 și 2013 a determinat o creștere evidentă a ponderii microorganismelor gramnegative în totalul tulpinilor izolate și invers o diminuare a ponderii microorganismelor grampozitive (fig. 9). Dacă în anul 1997, ponderea microorganismelor gram-pozitive a constituit 65,66%, apoi în anul 2010 și, respectiv, 2013 ponderea lor a scăzut până la 56,70% și 41,70% pe când ponderea microorganismelor gram-negative, invers, a crescut de la 33,90% în anul 1997, până la 41,20% în 2010 și 56,50% în 2013.

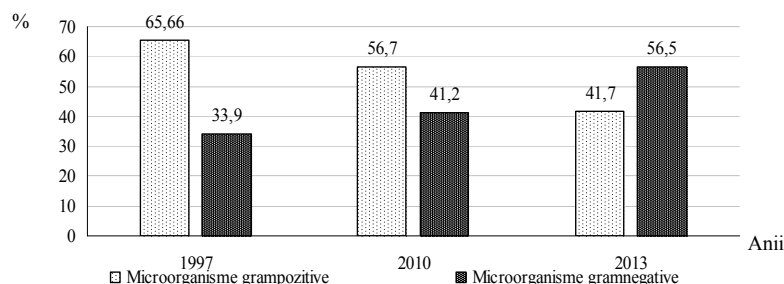


Fig. 9. Evoluția structurii microorganismelor – agenți cauzali în infecțiile septico-purulente

Analiza comparativă a sensibilității/rezistenței tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP în anii 2010 și 2013 a constatat că în anul 2010, dintr-un total de 28164 probe, în 48,57% au fost sensibile și în 51,44% rezistente. Spre deosebire, în anul 2013, din totalul de 36682 probe, în 53,76% microorganismele testate au fost sensibile și în 46,24% au fost rezistente. Microorganismele gram-pozitive testate în anul 2010 au fost sensibile în 59,75% și rezistente în 40,25%, iar în anul 2013 au fost sensibile în 68,80% și rezistente în 31,20%. Atât în anul 2010, cât și în anul 2013, microorganismele gram-negative au fost cele mai rezistente față de

constituit 28164, dintre care în 51,44% tulpinile de microorganisme au manifestat rezistență față de antibiotice iar în 48,56% - sensibilitate. Un grad mai înalt de rezistență față de antibiotice au manifestat microorganismele gram-negative – în 8808 probe sau 61,66% și, invers, sensibilitate - în 5478 probe (38,34%). Microorganismele gram-pozitive s-au dovedit a fi sensibile în 8047 probe (59,75%) și rezistente în 5420 probe - 40,25%. Din microorganismele gram-pozitive, un grad de rezistență mai înalt față de antibiotice au manifestat tulpinile de *E. faecalis* – în 58,86% probe și *S. epidermidis* - în 43,90% probe, și invers, sensibilitate mai înaltă față de antibiotice au manifestat *S. aureus* – în 68,34% din probe și *S. pyogenes*, în 79,40% probe. Din microorganismele gram-negative, cele mai rezistente tulpini s-au dovedit a fi cele de *Acinetobacter* sp., care au manifestat rezistență față de antibiotice în 86,87% din probe.

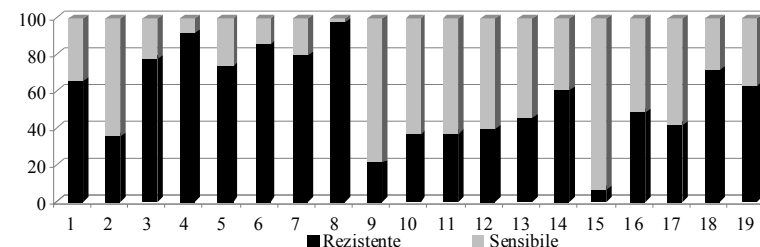


Fig. 7. Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP în funcție de grupele de antibiotice:

1) Peniciline; 2) Penicilin/Beta-lactamaz inhibitor; 3) Cefalosporine I gen.; 4) Cefalosporine II gen.; 5) Cefalosporine III gen.; 6) Cefalosporine IV gen.; 7) Total Cefalosporine; 8) Monobactame; 9) Peneme; 10) Aminoglicozide; 11) Chinolone; 12) Lincomicine; 13) Macrolide; 14) Nitrofurane; 15) Oxazolidine; 16) Glicopeptide; 17) Fenicolis; 18) Tetraciline; 19) Antifungice;

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor de microorganisme decelate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU, în funcție de grupul de antibiotice (fig. 7) a constatat, că o rezistență mai înaltă microorganismele date manifestă față de peniciline (65,40%) și cefalosporine (79,40%). O sensibilitate mai înaltă tulpinile izolate au prezentat față de următoarele grupe de antibiotice: peneme (78,90%), beta-lactam+inhibitor (64,0%), aminoglicozide (63,30%), lincomicine (60,00%).

3.3. Structura etiologică și antibioticorezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu.

În structura etiologică, microorganismele gram-pozitive au constituit 55,28% (n=1774) la pacienții din staționar și 63,34% (n=463) la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu, iar microorganismele gram-negative - 43,47% (n=1395) și 31,33% (n=229), respectiv, și fungii 1,25% (n=40) și 5,34% (n=39), respectiv.

Din microorganismele gram-pozitive, la pacienții tratați în staționar au predominat tulpinile de *S. epidermidis* - 38,95%, față de 33,33% la pacienții tratați ambulatoriu și *S. aureus* – 31,40% - staționar și 24,68% - ambulatoriu. Din rândul microorganismelor gram-negative, de la pacienții tratați în staționar au fost izolate

mai frecvent tulpini de *Pseudomonas* spp.– 17,42%, *Klebsiella* spp. – 15,05%, *Enterobacter* spp. – 13,26%, *Proteus* spp.– 11,47% și *Acinetobacter* spp. – 8,40%, pe când de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu, mai frecvent au fost izolate tulpini din genul *Escherichia* spp.– 51,10% și *Klebsiella* spp. – 13,54%.

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate față de antibiotice a constatat că din totalul probelor de testare a tulpinilor izolate de la pacienții tratați staționar, în 53,64% microorganismele date au prezentat rezistență și, invers, sensibilitate în 46,35% probe. Spre deosebire de staționar, microorganismele izolate de la pacienții tratați ambulatoriu au prezentat rezistență în 41,02% probe și sensibilitate în 58,98% probe. Așadar, rezistența generală a microorganismelor izolate de la pacienții din staționar, este mult mai înaltă față de cele din ambulatoriu, și este confirmată statistic ($t=16,32$, $p<0,05$) (tab. 1).

Tabelul 1 Antibioticosensibilitatea / rezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu

Microorganismele	Pacienți staționar			Pacienți ambulatoriu		
	Nr testări la antibiotică	S [*] %	R ^{**} %	Nr testări la antibiotică	S %	R %
Total microorg. Gram+	10679	58,19	41,81	2788	65,75	34,25
Total microorg. Gram-	12351	36,26	63,74	1935	51,63	48,37
Total fungi	208	37,02	62,98	204	36,27	63,73
Total	23238	46,35	53,65	4927	58,98	41,02

Microorganismele grampozitive izolate de la pacienții cu ISP din staționar s-au dovedit a fi sensibile în 58,19% și rezistente în 41,81% spre deosebire de microorganismele izolate de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu - 65,75% sensibile și 34,25% - rezistente ($t=7,43$, $p<0,05$) (tab. 1). Microorganismele gramnegative izolate de la pacienții din staționar, de asemenea s-au dovedit a fi mult mai rezistente față de antibiotice în comparație cu cele izolate de la pacienții ambulatorii: 63,74% și 48,37%, respectiv, diferența fiind veridică statistic ($t=12,64$, $p<0,05$).

Analiza sensibilității / polirezistenței tulpinilor izolate de la pacienții tratați în staționar a constatat că în general 39,26% din ele au fost rezistente la 1-5 antibiotice, 28,45% la 6-10 antibiotice, 21,87% la 11-32 antibiotice și doar 10,40% sensibile la toate antibioticele testate. Astfel că 49,66% din tulpini pot fi clasificate ca habituale, 28,45% ca potențial-spitalicești și 21,87% ca spitalicești.

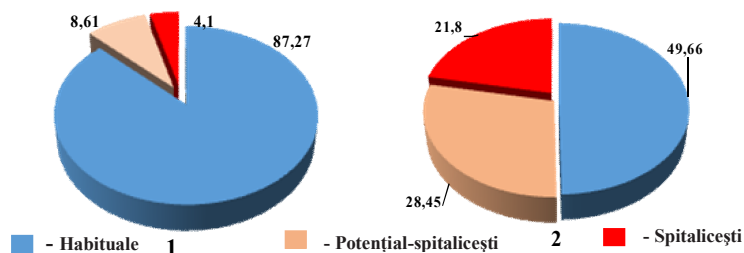


Fig. 8. Clasificarea tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu (1) și în staționar(2)

Din tulpinile izolate de la pacienții tratați ambulatoriu, 73,73% din ele au manifestat rezistență la numai 1-5 antibiotice, 8,61% la 6-10 antibiotice și 4,10% la 11-32 antibiotice, iar 13,54% s-au dovedit a fi sensibile la toate antibioticele. Așadar, spre deosebire de tulpinile izolate de la pacienții tratați în staționar, 87,27% din tulpinile izolate de la pacienții ambulatorii pot fi clasificate ca habituale, 8,61% ca potențial spitalicești și doar 4,10% ca spitalicești, ceea ce confirmă faptul că în cadrul staționarului ISP sunt provocate în special de tulpini spitalicești, polirezistente la antibiotice.

Analiza comparativă a sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate de la pacienții cu ISP din staționar și ambulatoriu, în relație cu grupul de antibiotice a constatat de asemenea o rezistență diferită. Microorganismele izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar în comparație cu cei tratați ambulatoriu au prezentat o rezistență mai înaltă în special față de peniciline – 66,48% și 60,28%, respectiv ($t=2,75$, $p<0,05$) și cefalosporine - 81,05% și 69,55%, respectiv ($t=7,03$, $p<0,05$).

4. ANALIZA ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROORGANISMELOR IZOLATE DE LA PACIENȚII CU ISP ÎN FUNCȚIE DE METODA DE TESTARE ȘI EVOLUȚIA ÎN DINAMICA MULTIANUALĂ.

4.1. Analiza comparativă a antibioticorezistenței/sensibilității microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP testate prin metoda clasică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact, cu utilizarea programului WHONET.

Pe parcursul anului 2013 prin metoda clasică (disc-difuzimetrică) de la pacienții cu ISP internați în cadrul IMU au fost identificate 1946 tulpini de microorganisme, inclusiv 910 tulpini de microorganisme gram-pozitive (46,76%), 995 tulpini (51,13%) de microorganisme gram-negative și 41 tulpini (2,11%) de fungi, iar 1057 tulpini au fost identificate cu ajutorul sistemului automatizat VITEK 2 Compact (V2C), inclusiv - 333 tulpini (31,50%) de microorganisme gram-pozitive și 724 tulpini (68,50%) de microorganisme gram-negative.

Metoda automatizată s-a dovedit a fi mai sensibilă privitor la determinarea speciilor de microorganisme. Dacă prin metoda clasică au fost detectate 52 specii de microorganisme, atunci prin sistemul V2C au fost determinate 76 specii de microorganisme – agenți cauzali în ISP.

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate față de antibiotice determinată prin metoda clasică și sistemul V2C a constatat atât legități comune, cât și particularități. Din totalul probelor de testare ($n=20947$) a tulpinilor izolate prin metoda manuală, în 45,90% microorganismele date s-au dovedit a fi rezistente și în 54,10% - sensibile la antibiotice. Microorganismele testate prin sistemul V2C s-au dovedit a fi rezistente la antibiotice în 46,80% și sensibile - 53,20%, însă diferența nu e veridică statistic ($t=1,71$, $p>0,05$).

Analiza comparativă a sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate de la pacienții cu ISP, testate prin metoda clasică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact, de asemenea a evidențiat o diferență a rezistenței / sensibilității față de diferite grupe de antibiotice. Microorganismele izolate de la pacienții cu ISP, testate cu analizatorul automatizat VITEK 2 Compact au prezentat o rezistență mai înaltă față de peniciline (62,98%) în comparație cu cele testate prin metoda clasică (49,15%), beta-lactam+inhibitor – 75,16% și 27,70% și cefalosporine - 60,12% și 55,58%, respectiv.