

**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

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

Prisacari Viorel
Membru corespondent al AȘM
Doctor habilitat în medicină,
Profesor universitar, Om Emerit,
epidemiologie

Autor:

Berdeu Ion

Chișinău, 2015

© Berdeu Ion, 2015

CUPRINS

ADONOTARE	5
LISTA ABREVIERILOR	8
INTRODUCERE	10
1. ACTUALITĂȚI ȘI PROBLEME CU PRIVIRE LA ANTIBIOTICOREZISTENȚA MICROBIANĂ (REVISTA LITERATURII).....	15
1.1. Actualitatea problemei	15
1.2. Căile de obținere a rezistenței	16
1.3. Particularitățile etiologice și antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale	21
1.4. Problema eficientizării monitoringului antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale	34
1.5. Măsurile de optimizare a sistemului de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale	38
1.6. Concluzie la capitolul 1	42
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	43
2.1. Metodologia de organizare a cercetării	43
2.2. Materiale și metode	43
3. REZULTATELE STUDIULUI ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN BAZA PROGRAMULUI COMPUTERIZAT WHONET.....	47
3.1. Implementarea programului computerizat WHONET în monitoringul antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală	47
3.2. Rezultatele studiului antibioticorezistenței/sensibilității microorganismelor izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente tratați în staționar	58
3.3. Structura etiologică și antibioticorezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu	69
3.4. Concluzii la capitolul 3	78
4. ANALIZA ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROORGANISMELOR IZOLATE DE LA PACIENȚII CU ISP ÎN FUNCȚIE DE METODA DE TESTARE ȘI EVOLUȚIA ÎN DINAMICA MULTIANUALĂ	79
4.1. Caracteristica 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	79
4.2. Evoluția antibioticorezistenței microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP în dinamica multianuală	101

4.3. Optimizarea principiilor de achiziționare și utilizare rațională a antibioticelor.....	125
4.4. Concluzii la capitolul 4	127
CONCLUZII GENERALE.....	128
RECOMANDĂRI PRACTICE	129
BIBLIOGRAFIE	130
ANEXA 1 CERTIFICAT DE INOVATOR.....	144
ANEXA 2 ACT DE IMPLEMENTARE	145
ANEXA 3 ACT DE IMPLEMENTARE	146
ANEXA 4 ACT DE IMPLEMENTARE	147
ANEXA 5 DIPLOMĂ	148
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	149
CV AUTORULUI	150

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, microorganisme 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 staționarului. 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 antibioticorezistență/ rezistență a microorganismelor-agenți cauzali ai ISPN. Au fost elucidate particularitățile evolutive a structurii etiologice și antibioticorezistenței/ 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.

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 рекомендаций, 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. Выяснена 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 функциональная 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.

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.

LISTA ABREVIERILOR

ADN – acid dezoxiribonucleic

AMR – antimicrobial resistance

ARN – acid ribonucleic

ASPs – antimicrobial resistance stewardship programs

CA-MRSA - community-acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

CDC- Center of Disease Control

CPE - carbapenemase-producing Enterobacteriaceae

CRE - Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (Enterobacteriaceae rezistente la carbapeneme)

CRP - C-reactive protein

EARS-Net – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

EC - European Community

ECDC – European Center of Disease Control

ESBL - Extended-spectrum beta-lactamases (beta-lactamaze cu spectru extins)

EU/EEA - European Union/European Economic Area

EUR/RC – European Regional Committee

GISA - Glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*

GRSA - Glycopeptide-resistant *Staphylococcus aureus*

HA-MRSA - hospital-acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

hGISA – heteroresistant glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*

HLR - High-level resistance

IDSA – Infection Disease Society of America

IMSPICȘDOSM și C – Instituția Medico-Sanitaro Publică. Institutul de Cercetări Științifice în Domeniul Ocrotirii Sănătății Mamei și Copilului.

IN – infecții nosocomiale

ISPN – Infecții septico-purulente nosocomiale

KPC - *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

MDR – multidrug resistance

MIC – minimum inhibitory concentration

MLSB - resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin B

MLTS - Multilocus sequence typing

MPC – mutant prevention concentration

MRSA – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSW – mutant selection window

MYSTIC – Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection

NDM-1 - New Delhi metallo-beta-lactamase 1

NNISS – National Nosocomial Infections Surveillance

OMS – Organizația Mondială a Sănătății

OXA-48 – oxacillinase 48

PCR - Polymerase chain reaction

PD – pharmacodynamic

PK – pharmacokinetic

PLP – proteine de legare a penicinelor

PROTEKT – Prospective Resistant Organism Tracking and Epidemiology for the Ketolide Telithromycin

PVL - panton valentine leukocidin

SENTRY – SENTRY Antimicrobial Surveillance Program

SHEA – Society of Healthcare Epidemiology of America

SMART – The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends

SUA – Statele Unite ale Americii

TEST – Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial

TRUST – Tracking Resistance in the US Today

VIM - Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase

VRE – *Enterococcus vancomycin* rezistent

VRSA - Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*

WHA - World Health Assembly

INTRODUCERE

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 a acestor tulpini au manifestat față de peniciline (92,30%), tetraciclina (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 tetraciclina (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%), tetraciclina (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 că 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.

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 antibioticosensibilitate/rezistență a microorganismelor - agenți cauzali ai ISPN în funcție de tipul microorganismului, tipul și grupa antibioticelor, profilul staționarului;

4. Au fost determinate particularitățile antibioticosensibilității/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 antibioticosensibilității/ 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 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.

Implementarea practică a rezultatelor

Rezultatele studiului au fost implementate în cadrul Centrului Național-Științifico Practic de Medicină Urgentă, 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 lucrării

- Conferințele științifice anuale ale studenților și colaboratorilor USMF „Nicolae Testemițanu”, 2011, 2012, 2013, 2014;
- Conferința Științifică Națională cu Participare Internațională „Optimizarea Supravegherii Epidemiologice în Infecțiile Nosocomiale”, 25 mai 2012, Chișinău;
- Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием „Эпидемиология в XXI веке: новые горизонты профилактики”, 25-27 сентября 2013 года, 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

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.

Teza a fost discutată și aprobată la ședința Catedrei Epidemiologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” 19.01.2015 (proces-verbal nr. 7) și la ședința Seminarului științific de profil 321. Medicină generală, 331. Sănătate Publică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” din 06.02.2015, procesul verbal nr. 1.

Volumul și structura tezei: Lucrarea este expusă pe 129 pagini, include 55 figuri, 12 tabele, 5 anexe. Compartimentele tezei includ: introducere, 4 capitole, concluzii și recomandări practice, rezumat în limbile română, rusă, engleză, indicele bibliografic cu 264 de referințe.

În **Introducere** sunt prezentate actualitatea și importanța științifico-practică a problemei abordate, scopul și obiectivele, noutatea științifică și importanța teoretică cu valoarea aplicativă a lucrării și aprobarea rezultatelor obținute în studiu.

Capitolul I bazat pe reviuul literaturii conține o trecere în revistă a publicațiilor științifice cu privire la particularitățile etiologice și antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale, problema eficientizării monitoringului antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale, măsuri cu privire la optimizarea sistemului de monitoring a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale, ceea ce argumentează necesitatea efectuării acestui studiu. Capitolul finalizează cu concluzie.

În **capitolul II** „Materiale și metode de cercetare”, sunt descrise baza clinică, materialul de studiu, metodologia de efectuare a antibioticogramelor, precum și metodologia de prelucrare statistică a materialului.

În **capitolul III** este descrisă metodologia de implementare a programului computerizat WHONET în monitoringul antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală, rezultatele studiului privind antibioticorezistența/sensibilitatea microorganismelor izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente în baza programului WHONET. De asemenea sunt determinate structura etiologică și antibioticorezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu. Capitolul finalizează cu o serie de concluzii.

În **capitolul IV** a fost descrisă caracteristica antibioticorezistenței /sensibilității microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP testate atât prin metoda clasică, cât și cu utilizarea sistemului automatizat VITEK 2 Compact. A fost demonstrată evoluția antibioticorezistenței microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP în dinamica multianuală. La finele capitolului sunt descrise principiile de optimizare a achiziționării și utilizării raționale a antibioticelor. Capitolul finalizează cu o serie de concluzii.

Concluziile generale și recomandările practice sunt incluse într-un compartiment aparte al tezei.

1. REVISTA LITERATURII

1.1. Actualitatea problemei

Antibioticorezistența microbiană este o problemă alarmantă de sănătate publică la nivel mondial [29]. Infecțiile cauzate de bacterii rezistente față de antibiotice sunt în prezent un lucru tot mai frecvent, iar unii agenți patogeni au devenit polirezistenți față de antibiotice. Pierderea eficacității antibioticelor va submina capacitatea de a lupta cu bolile infecțioase și de a gestiona cu complicațiile infecțioase în special la pacienții supuși chimioterapiei în tratamentul cancerului, hemodializei pentru insuficiența renală, transplantului de organe, etc. [1].

Antibioticorezistența microbiană e un fenomen natural. Timpul inestimabil de mic de dezvoltare a microbilor le conferă mai multe oportunități de a obține gene de rezistență decât putem crea noi substanțe antimicrobiene [30,31].

Mai mult ca atât, nu au existat descoperiri de succes al unor noi clase de antibiotice din 1987, pe când unii agenți patogeni, cum ar fi enterobacterii rezistente la carbapeneme (CRE) se răspândesc cu o rapiditate fără precedent [32].

Doar după trei ani de la implementarea penicilinelor în practica medicală, 38% din tulpinile de *Staphylococcus aureus* dintr-un spital din Londra erau rezistente față de acest antibiotic [33]. În prezent, aproximativ 90% din aceste tulpini înregistrate în Marea Britanie [34] și aproape toate din SUA sunt rezistente față de penicilină și mai mult de 50% din tulpini sunt rezistente la meticilină [35].

Actualmente peisajul bacteriilor gramnegative rezistente la antibiotice este necunoscut și devine tot mai îngrijorător. A crescut prevalența microorganismelor producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (ESBL) atât în Europa, cât și în lume [36,37].

E îngrijorătoare emergența și răspândirea rapidă a microorganismelor gramnegative producătoare de carbapenemaze, cum ar fi tulpinile de *Acinetobacter* spp. extensiv rezistente față de antibiotice și *Enterobacteriaceae* producătoare de New-Delhi metalo-proteaza-1 (NDM-1), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemază (KPC), sau oxacillinază 48 (OXA-48), deoarece aceste infecții cauzate de microorganisme multirezistente lasă pacienții cu puține sau fără nici o opțiune de tratament antimicrobian [38].

Povara economică a antibioticorezistenței microbiene continuă să crească. Se estimează că pierderile economice anuale cauzate de infecțiile provocate de microbi rezistenți la antibiotice, doar în SUA sunt de aproximativ 55 miliarde \$ anual [39], însă economiștii avertizează că aceasta este probabil o subestimare. Aceste estimări sunt bazate în linii mari doar pe costurile "elementare", referitoare la tratamentele suplimentare cauzate de infecțiile rezistente în comparație cu infecțiile primare sensibile, care maschează povara economică critică care apare atunci când

rezistența duce la pierderea de multe avantaje din domeniul îngrijirii medicale care le-au permis apariția antibioticelor [40].

Antibioticele reprezintă o resursă neregenerabilă, deoarece perioada de timp în care ele sunt benefice și disponibile are o limită biologică, ceea ce nu e valabil în cazul altor medicamente [41].

1.2. Căile de obținere a rezistenței

Mecanismele moleculare de rezistență la antibiotice au fost studiate intens și au implicat investigații genetice și biochimice a diferitor funcții celulare a bacteriilor [5,42,43]. De fapt, studiile privind mecanismele de acțiune a antibioticelor și a rezistenței au contribuit semnificativ la cunoștințele noastre cu privire la structura celulară și funcțiile ei. Procesele de rezistență sunt larg răspândite în cadrul regnului animal și au fost bine descrise la o varietate de bacterii comensale și patogene; majoritatea pot fi diseminate de unul sau mai multe mecanisme de transfer de gene [44].

Unul din mecanismele de bază în formarea rezistenței microorganismelor la antibiotice tradițional sunt recunoscute mutațiile ocazionale în procesul de replicare a ARN. Un alt mijloc de dobândire a antibioticorezistenței constituie plasmidele și alte elemente genetice mobile (transpozomi, transducția cu fag, transformarea genetică). Aceste mecanisme prezintă un pericol mai mare decât mutațiile cromozomiale. S-a constatat că ele asigură transmiterea proprietăților de rezistență microorganismelor din interiorul speciei, dar și între specii [2,45].

Genele responsabile de β -lactamaze au probabil cea mai largă răspândire; mutații aleatorii ale genelor care codifică aceste enzime au dat naștere la catalizatori modificați cu un spectru tot mai extins de rezistență [46]. Spre exemplu, β -lactamaze TEM, plasmidic codificate au dus la apariția unei întregi familii de enzime, oferind dovezi ample cu privire la această posibilitate de apariție a mutațiilor. Genele responsabile de β -lactamaze sunt străvechi [47] și au fost găsite în medii izolate și pustii [48], ceea ce demonstrează că noile β -lactamaze cu substrat modificat au apărut din mediul înconjurător. Un alt exemplu, noua β -lactamază cu spectru larg (CTX-M) a fost achiziționată de la tulpinile de *Kluyvera* din mediul înconjurător și au apărut în clinică în anii 1990; aceasta a fost prima enzimă care s-a dovedit a hidroliza cefalosporinele cu spectru larg, la un nivel clinic semnificativ [49]. Genele CTX-M și variantele ulterioare (aproape 100 de substituenți ai aminoacizilor au fost identificați la moment) au o rată foarte mare de transmitere și reprezintă o amenințare globală [50].

Macrolidele, ca eritromicina și succesorii ei, au fost introduși pentru a lupta cu problema rezistenței în meticilină și au fost utilizate pe larg pentru tratamentul infecțiilor provocate de microorganismele grampozitive. Nu este deloc surprinzător, că tulpini rezistente datorită unui

număr mare de diverse mecanisme sunt acum răspândite pe scară largă. Macrolidele și antibioticele înrudite acționează prin legarea în diferite locuri la peptidele care ies în tunelul subunității ribosomale 50S. Rezistența poate apărea prin modificarea ARN-ului sau a componentelor proteice ale tunelului. A fost descrisă o modificare specifică care generează rezistență la toate antibioticele care acționează la acest loc din ribozom, și această modificare se răspândește [51].

Un alt exemplu al mutațiilor genetice este apariția recentă a unui mecanism de rezistență la fluoroquinolone. Atunci când aceste antibiotice cu un potențial înalt au fost introduse în 1987, unii experți temerari a prezis că rezistența la această nouă clasă de inhibitori de girază era puțin probabilă, deoarece cel puțin două mutații ar fi necesare pentru a genera un fenotip semnificativ de rezistență. De asemenea a fost sugerat că transmiterea orizontală a rezistenței la fluoroquinolone era puțin probabilă să apară. Cu toate acestea, mutații ale genelor bacteriene ale girazelor și a efluxului chinolonelor din celule au început a fi tot mai des întâlnite [52]. Mult mai neașteptat a fost apariția unui mecanism de transmitere a inactivării fluoroquinolonelor. Acest mecanism se datorează probabil faptului că una din multitudinea de aminoglycoside N-acetiltransferază are capacitatea de a modifica o amină secundară din fluoroquinolone, fapt ce duce la reducerea activității [53,54]. Această modificare nu conduce la apariția unei rezistențe de nivel înalt la fluoroquinolone, dar poate conferi o toleranță de nivel scăzut care favorizează selecția mutațiilor responsabile de rezistență [55]. Un alt mecanism de rezistență la fluoroquinolone, cunoscut ca Qnr, o proteină de legare a ADN-ului [56], și e responsabilă pentru rezistența de nivel jos la chinolone [57].

Rezistența naturală (intrinsecă).

Rezistența naturală este prezentă la toate speciile bacteriene. Posibilitatea de a inhiba elemente care conțin componentele responsabile de rezistența intrinsecă la agenții patogeni oferă promisiunea pentru reorientarea antibioticelor existente împotriva bacteriilor rezistente intrinsec la ele [58].

Rezistența naturală se referă la existența genelor din genomul bacteriilor care pot genera un fenotip de rezistență. Diferite genuri, specii, tulpini, etc, prezintă o gamă diferită de fenotipuri de rezistență la antibiotice. Începând cu acest mileniu, datorită disponibilității de tehnici de secvențiere rapidă a genomului bacterian a dezvăluit mai multe gene cu potențial intrinsec care pot duce la apariția fenotipuri de rezistență în situații clinice. Spre exemplu, o cale genetică comună de sporire a rezistenței e amplificarea genetică, în special în cazul rezistenței la sulfanilamide [59] și trimetoprim [60]. Aceste studii oferă indicii bune cu privire la ceea ce se poate întâmpla în viitor.

Analiza fenotipică prin inactivarea parțială sau completă a genelor din genomul bacteriilor permit de a identifica mutantele care au un răspuns hipersensibil la antibiotice. Se presupune că

superexpresia corespunzătoare genei sălbatice va genera un fenotip de rezistență. Astfel de analiză detaliată a librăriei Keio E. coli de gene mutante a identificat 140 de izolate distincte care au fost hipersensibile la o serie de diferite clase de antibiotice [61]; astfel de studii s-au efectuat și cu *Pseudomonas aeruginosa* [62].

Rezistența datorată activității antropogene.

Având în vedere datele disponibile care indică că doar o mică cantitate din antibioticele prezente în mediul înconjurător sunt datorate activității naturale a tulpinilor din mediul lor nativ, trebuie să ne asumăm faptul că producția comercială e responsabilă de cea mai mare parte de antibiotice găsite în biosferă [63].

Numeroase tipuri de activități antropogene crează rezervoare imense de rezistență [64] și, destul de probabil, de gene de virulență și organisme care le adăpostesc [65]. De exemplu, studiile genetice a apelor reziduale a evidențiat că ele sunt un rezervor bogat în gene r și microorganisme rezistente [66,67]. În flora intestinală a oamenilor ce locuiesc aparent izolați de civilizația modernă și care nu au fost supuși tratamentului cu antibiotice, studii recente au descoperit prezența de gene r și chiar de integroni ce codifică rezistența [68,69,70].

În special în spitale, un mecanism important de formare a antibioticorezistenței, este selecția naturală a clonelor de microorganisme rezistente. Tulpinile sensibile la antibiotice de obicei sunt distruse sub presiunea antibioticelor, lăsând după ele mutante care posedă rezistență la antibiotice. Aceste clone ocupă ușor nișa eliberată de microorganismele sensibile [45].

Totuși, achiziționarea rezistenței la antibiotice este legată în mare măsură de utilizarea largă, nu întotdeauna rațională, a chimioterapicelor, și anume:

- utilizarea în masă, deseori abuzivă a antibioticelor în tratamentul pacienților;
- utilizarea largă, deseori nejustificată a antibioticelor în scopuri profilactice;
- administrarea neadecvată a antibioticelor (metoda de administrare, dozarea, calitatea joasă a preparatului).

Un factor suplimentar ce influențează creșterea antibioticorezistenței microbiene este întrebuințarea masivă a antibioticelor în veterinarie și zootehnie în scop de prevenire a îmbolnăvirii sau ca stimulent de creștere, care uneori întrece dimensiunile utilizării acestor preparate în medicină. Cel puțin 17 clase de antibiotice au fost aprobate ca stimulente de creștere în SUA. Acestea includ tetraciline, peniciline, macrolide, lincomicine și virginiamicine [71,72].

Utilizarea antibioticelor pentru a trata infecțiile bacteriene la animale și plante a crescut pe parcursul secolului XX. Antibioticele au devenit un element important în producția comercială a animalelor datorită efectelor lor favorabile asupra creșterii atunci când sunt administrate cantități subterapeutice [73].

În consumul exagerat al antibioticelor sunt implicați cel puțin 3 variabile independente. Așteptările pacienților pentru a le fi prescrise antibiotice pentru orice infecție, uneori simple ori o stare febrilă. De asemenea și teama medicilor de infecțiile necontrolate. Antibioticele provoacă o falsă senzație de securitate atunci când sunt prescrise înainte sau fără a efectua un diagnostic complet. În al treilea rând, multe țări permit ca antibioticele să fie procurate fără prescrierea medicală [74].

Diferențele de locație, datele demografice ale populației și politicile privind reprezentanții farmaceutici sunt de asemenea covariabile potențial importante pentru consumul exagerat de antibiotice [75,76].

Accesul la antibiotice gratuite ori ieftine, ca medicamentele generice, au fost de asemenea asociate cu consumul exagerat în special în țările în curs de dezvoltare, precum și promovarea probelor de antibiotice generice gratuite în țările dezvoltate [77].

Cu toții suntem responsabili de dezvoltarea antibioticorezistenței, inclusiv guvernele, universitățile, asociațiile profesionale, industria farmaceutică și chimică, personalul medical, și consumatorii care privesc antibioticele ca un răspuns rapid și ușor la o stare care necesită un răspuns mult mai profund de la indivizi și societate [78].

Mai multe studii au arătat că rezistența de cele mai multe ori duce la o întârziere a administrării unei terapii antimicrobiene eficiente, un lanț de evenimente care a fost asociat cu rezultate negative. Majoritatea studiilor publicate au evidențiat o legătură dintre antibioticorezistență și efectele adverse care duc la o creștere de la 1,3 la 2 ori a mortalității, morbidității și a costurilor pentru pacienții cu infecții rezistente, în comparație cu cei cu infecții sensibile [79,80].

Infecțiile septico-purulente nosocomiale provocate de microorganismele rezistente la antibiotice nu sunt doar dificil de tratat, dar și măresc semnificativ durata de spitalizare și costurile tratamentului. Adicional, atunci când pacientul este externat, personalul medical și vizitatorii pot deveni purtători care facilitează răspândirea microorganismelor rezistente în comunitate [81,82].

În ultimele decenii s-a observat o creștere a microorganismelor MDR de la cele grampozitive spre cele gramnegative. Una din cauzele acestui fenomen este lipsa de noi agenți antimicrobieni activi împotriva microorganismelor gramnegative rezistente [83]. Problema fundamentală constă în faptul că durata de viață utilă a antibioticelor este dependentă de viteza cu care se dezvoltă rezistența, care, la rândul său, în mare măsură depinde de modul de utilizare a antibioticelor nu numai în medicină și veterinarie, dar și în agricultură și horticultură [5].

Rezistența datorată transmiterii de gene

Mult timp a fost considerat că achiziția rezistenței necesită consumuri enorme de energie din partea microorganismelor, și că multe mutante rezistente pot fi crescute limitat doar în condiții de laborator. Astfel a fost considerat că tulpinile multidrogrezistente vor fi instabile și vor avea o durată limitată de viață în absența selecției [84].

Deși există similarități dar și diferențe clare dintre bacteriile gram-pozitive și cele gram-negative, totuși transmisia mediată plasmidic e cel mai frecvent mecanism de transmitere orizontală a rezistenței [85]. E surprinzător faptul că deși bacteriofagi transportatori de gene r au fost foarte rar identificați în mediul înconjurător, nu există nici o îndoială despre asocierea fagilor cu mecanismele necesare pentru formarea elementelor mobile de rezistență și cu genele r asociate cromozomial. Ele sunt adesea văzute ca "amprentele digitale" ale fagilor adiacente genelor care codifică rezistența sau virulență la diferiți vectori. Se pare că astfel de evenimente sunt destul de frecvente la *S. aureus* [86].

La streptococi, meningococi și alte genuri asemănătoare, schimbul de virulență și gene de patogenie este foarte frecvent, principalul mecanism al schimbului de ADN pare să fie transformarea [87]. La tulpinile de *Acinetobacter* spp, transferul orizontal de gene e foarte frecvent [88]; tulpinile patogene de obicei poartă insule largi cu gene [89].

În epoca rezistenței la antibiotice, elaborarea de noi agenți antimicrobieni, cum ar fi cefalosporine de generația a cincea, monobactame, inhibitori de β -Lactamaze, aminoglicozide, chinolone, oxazolidine, glicopeptide și tetraciclone active împotriva agenților patogeni rezistenți sunt mai mult decât binevenite. Din aceste preparate unele sunt deja aprobate, altele sunt încă testate, dar nevoia de antibiotice noi încă nu acoperă creșterea prevalenței infecțiilor provocate de microorganisme rezistente la antibiotice [71]. În Raportul Comitetului Regional European privitor la planul de acțiuni în problema rezistenței la antibiotice (EUR/RC61/14) se menționează că în ultimii treizeci de ani pe piață au apărut numai două clase noi de antibiotice (oxazolidine și lipopeptidele ciclice) – ambele fiind utilizate împotriva microorganismelor grampozitive. Tot la această problemă se referă și Societatea Infecționiștilor din America (IDSA), care într-un articol recent a raportat că din 2010 a fost aprobat un singur antibiotic nou și sunt puține noi medicamente în curs de dezvoltare. Doar 7 noi antibiotice cu acțiune asupra microorganismelor gram-negative MDR au ajuns în faza 2 sau 3 de testare începând cu anul 2010, când IDSA a stabilit inițiativa 10 × '20, cu scopul de a dezvolta 10 noi antibiotice până în anul 2020 [90,91].

Pe lângă potențialul rapid de formare a rezistenței microorganismelor la antibiotice, unul din motivele principale pentru care industria a abandonat cercetările și dezvoltarea unor noi

antibiotice este că investițiile nu mai pot fi recuperate rapid, în mare parte din cauza condițiilor de reglementare care au crescut și a controalelor stricte de preț impuse de multe guverne [4,92].

În sumar, ceea ce are loc în prezent e un proces evoluționar intensificat de influența antropogenă, comparativ cu procesul lent cu evoluție naturală. Procesele existente de achiziție de gene, transfer, modificare și expresie care au fost la loc, se extind și accelerează în biosfera modernă [2].

1.3. Particularitățile etiologice și antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale.

Infecțiile septico-purulente nosocomiale spre deosebire de infecțiile clasice, prezintă o patologie ne specifică atât din punct de vedere al manifestărilor clinice, cât și etiologic. ISPN, în general, cât și diferite forme nosologice separate, pot fi cauzate de o gamă largă de microorganisme, ceea ce demonstrează natura polietiolologică a ISPN [16,93]. Conform unor studii efectuate precedent [94], numai pe parcursul unui an într-un singur spital, ISPN au fost provocate de 27 specii de microorganisme, inclusiv grampozitive (62,3%), gramnegative (34,7%), altele (2,8%).

O particularitate etiologică exprimată la ISPN este că, în topul agenților cauzali, un rol dominant îl au microorganismele așa-zise oportuniste, condiționat patogene, multe din ele aparținând la saprofiți, cum ar fi *S. epidermidis*, *S. saprofiticus*, *E. coli*, microorganismele de genul *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Proteus*, *Edwardsiella* etc. [16,45,95].

Structura etiologică a infecțiilor septico-purulente nosocomiale variază și include o diversitate mare de specii de bacterii grampozitive și gramnegative, sporulate și asporulate, aerobe și anaerobe care aparțin la diferite familii și genuri, și în mare măsură depinde de profilul instituției medico-sanitare publice, de vârsta pacienților, de metodele instrumentale contemporane de diagnostic și tratament utilizate și de alți factori [96].

Microorganismele condiționat patogene, agenți ai infecțiilor nosocomiale pot aparține la diferite variante ecologice: spitalicești sau extraspitalicești [96].

Heterogenitatea populațiilor de microorganisme condiționat patogene se manifestă în majoritatea lor prin caracterele biologice, și îndeosebi prin rezistența la antibiotice, antiseptice, dezinfectante, față de unii factori fizici, bacteriofagi și bacteriocine. Aceste microorganisme au și o mare heterogenitate în structura antigenică ceea ce creează mari probleme în identificarea culturilor izolate. În heterogenitatea întregii specii rolul principal revine mutațiilor și recombinărilor [96]. Populațiile de microorganisme condiționat patogene nu numai că sunt

heterogene, dar și variabile, dinamice în timp. Aceste modificări se petrec permanent și constau în dispariția variantelor inițiale și apariția variantelor noi în populație, în schimbarea componenței variantelor, în modificarea raporturilor cantitative a variantelor (trecerea de la variantă dominantă la cea minoră, și invers). Componența populației se modifică în procesul tratamentului antimicrobian și se manifestă prin trecerea de la variante sensibile la chimiopreparate la polirezistente, de la variante extraspitalicești la cele spitalicești [96].

Variabilitatea interpopulațională a microorganismelor condiționat patogene se manifestă prin formarea și răspândirea largă în staționările spitalicești a tulpinelor și ecovariantelor spitalicești cu o rezistență sporită față de factorii antimicrobieni utilizați mai frecvent în instituția medicală și factorii umorali de rezistență nespecifică din organismul omului [96].

O particularitate importantă a acestor microorganisme este că ele ușor achiziționează rezistență (polirezistență) la antibiotice și dezinfectante, fenomen legat de diverse mecanisme de achiziționare a rezistenței la nivel molecular, caracteristice microorganismelor, cum ar fi mutațiile în timpul replicăției ADN, sau prin intermediul plasmidelor și altor elemente genetice mobile (transpozomi, transducția cu fag, transformare genetică), dar și de utilizarea largă, nu întotdeauna rațională, a chimioterapicelor și a dezinfectantelor [16].

Un studiu în acest aspect a fost efectuat de L. Ețco și coaut. (2008) pe modelul IMSPICȘDOSM și C, în care autorii au demonstrat cât specificitatea structurii agenților cauzali, atât și nivelul de rezistență microbiană față de antibiotice, în funcție de profilul staționarului și patologiei septico-purulente [18].

Alte studiile anterioare [17,22,97,98] au demonstrat elocvent polimorfismul etiologic și specificul infecțiilor septico-purulente în staționările de chirurgie abdominală, neurochirurgie și traumatologie.

Studiul efectuat de A. Paraschiv, pe modelul secțiilor de chirurgie abdominală și traumatologie, a constatat că în 53,86% cazuri ISPN au fost cauzate de microorganisme grampozitive și în 45,44% de microorganisme gramnegative. Din microorganisme grampozitive au predominat genul *Staphylococcus* (83,91%), printre care *S. aureus* (70,98%), *S. epidermidis* (28,49%), *S. haemolyticus* (0,53%); genul *Streptococcus* (8,26%) și *Enterococcus* spp. (5,21%). Din microorganisme gramnegative au predominat genul *Enterobacteriaceae* (83,50%), dintre care *E. coli* (75,30%), *P. mirabilis* (8,64%), *K. pneumoniae* (7,40%), ș.a.; *P. aeruginosa* (8,76%) și *Acinetobacter* spp. (6,70%). În funcție de grupul antibioticelor, aceste microorganisme au manifestat rezistență înaltă la peniciline (92,30%), tetraciclone (72,41%), macrolide (70,97%), polipeptide (68,18%) și sensibilitate la cefalosporine (50,80%), fluorochinolone (70,0%) și aminoglicozide (58,34%) [22].

Conform studiului efectuat de către V. Prisacari și E. Leu, în staționările de neurochirurgie ISPN au fost cauzate de 27 specii de microorganisme. Au predominat microorganismele grampozitive (49,30%), inclusiv *S. epidermidis* (14,78%), *S. aureus* (11,61%), *S. saprophyticus* (8,80%), urmate de microorganismele gramnegative (38,38%), dintre care au predominat *Acinetobacter* spp. (11,26%), *P. aeruginosa* (7,04%), *K. pneumoniae* (5,63%), *E. coli* – 4,57%. În rezultatul analizei antibioticogramelor a 284 tulpini de microorganisme, s-a constatat că 50,10% din ele au fost sensibile, iar 49,90% din ele au fost rezistente. O rezistență mai înaltă la antibiotice au manifestat microorganismele gramnegative (62,50%), inclusiv *K. pneumoniae* (72,30%), *P. aeruginosa* (66,50%), *E. coli* (63,2%), *Acinetobacter* spp. (61,20%), *Proteus* spp. (60,0%). Microorganismele grampozitive au fost rezistente în 42,50% din probele de testare la antibiotice. Din acest grup, cele mai rezistente au fost tulpinile de *E. faecalis* (68,0%) și *Corynebacterium* spp. (65,90%). Cele mai sensibile au fost tulpinile de *S. aureus* (79,80%), *S. epidermidis* (65,70%) și *S. saprophyticus* (59,60%) [17].

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții neurochirurgicali în funcție de grupul de antibiotice, a constatat că aceste microorganisme au manifestat o rezistență mai înaltă la peniciline (62,85%), cefalosporine de generația a doua (73,0%) și a treia (65,30%), tetraciline (52,30%) și aminoglicozide (49,90%). Sensibilitate mai înaltă, aceste tulpini au manifestat față de cefalosporine I generație (51,90%), carbapenemice (70,0%), glicopeptide (54,80%), macrolide (68,20%) și chinolone (56,80%) [17].

Centrul de Control al Bolilor din SUA, în funcție de rolul agenților cauzali în etiologia infecțiilor septico-purulente i-a grupat în 3 categorii: 1) **amenințări urgente:** *Clostridium difficile*, *Enterobacteriaceae* producătoare de carbapenemaze (CRE), *Neisseria gonorrhoeae* rezistente la antibiotice; 2) **amenințări serioase:** *Acinetobacter* multidrog rezistent, *Campylobacter* rezistent la antibiotice, *Candida* rezistentă față de fluconazol, *Enterobacteriaceae* producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (ESBLs), *Enterococcus* vancomicin rezistent (VRE), *Pseudomonas aeruginosa* multidrog rezistentă, *Salmonella* Non-typhi rezistentă, *Salmonella* Typhi rezistentă, *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilină (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* rezistent, *M. tuberculosis* rezistent; 3) **amenințări îngrijorătoare:** *Staphylococcus aureus* rezistent la vancomicină (VRSA), *Streptococcus* grupul A rezistent la eritromicină, *Streptococcus* grupul B rezistent la clindamicină [1].

Un grup de cercetători conduși de Boucher HW, într-un articol publicat în anul 2009 în revista Clinical Infectious Diseases, a denumit principalele microorganisme implicate în procesul de rezistență – ESKAPE patogeni (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, și *Enterobacteriaceae*)

subliniind astfel capacitatea lor de a "scăpa" (escape) de la tratamente antibacteriene obișnuite [83].

Microorganismele multidrog-rezistente (MDR) sunt definite ca nesensibile la unul sau mai multe antibiotice din trei sau mai multe clase de antibiotice, iar tulpinile rezistente la toate antibioticele, sunt clasificate ca tulpini extrem drog-rezistente [99]. Bacteriile MDR au un impact major asupra mortalității, duratei de spitalizare și a costurilor [100].

Conform studiului efectuat în Europa în anul 2012 [26], microorganismele izolate de la pacienții din secțiile de terapie intensivă s-au dovedit a fi mult mai rezistente față de clasele de antibiotice studiate, în comparație cu cele din alte secții din staționar. Diferența procentuală a rezistenței a fost mai puțin evidentă pentru *E. coli* decât *K. pneumoniae* și *P. aeruginosa* izolate de la pacienții din terapie intensivă față de cei din restul secțiilor, însă a fost semnificativă pentru toate 3 microorganisme.

Un nivel mult mai înalt al rezistenței e specific pentru toate speciile microorganismele izolate din staționar care au fost testate față de antibiotice în comparație cu cele din ambulatoriu. Diferența dintre staționar și ambulatoriu a fost în special mai mare pentru *K. pneumoniae* și *P. aeruginosa*, cu un nivel al rezistenței de 2-4 ori mai înalt, pe când diferența pentru *E. coli* a fost mai modestă, dar totuși semnificativă [26].

În mai multe studii, tulpinile de *E. coli* spre deosebire de alte microorganisme gram-negative, au fost mai frecvent asociate cu infecțiile sanguine din ambulatoriu [101], și au fost mai des asociate cu infecțiile sistemului urinar [102], în special la pacienții de gen feminin [103]. Aceasta e în contrast cu observațiile privind infecțiile invazive provocate de *K. pneumoniae* și *P. aeruginosa*, care au fost mai frecvent izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente nosocomiale din secțiile de terapie intensivă, cu originea în special din sistemul respirator sau gastrointestinal [102,103,104,105].

Toate microorganismele gram-negative incluse în studiu, izolate din staționar au un nivel mai înalt al rezistenței față de cele din ambulatoriu. Aceste rezultate sunt surprinzătoare și confirmă concluziile precedente a riscului mare de transmitere a microorganismelor rezistente în mediul spitalicesc. Presiunea selectivă înaltă a antibioticelor, utilizarea frecventă a dispozitivelor invazive și provocarea continuă de a menține un nivel înalt al controlului infecțiilor contribuie la creșterea riscului pentru pacienți pentru a achiziționa infecții nosocomiale provocate de microorganisme rezistente față de antibiotice [105].

Secțiile de terapie intensivă au fost descrise ca niște fabrici de creare, diseminare și amplificare a rezistenței antimicrobiene [106]. Atât infecțiile, cât și microorganismele MDR au ca rezultat o povară clinică și economică considerabilă. Prezența microorganismelor MDR măresc

impactul infecțiilor septico-purulente nosocomiale [107]. Comparativ cu infecțiile care nu au fost cauzate de microorganisme MDR, costurile adiționale de MDR la pacienții spitalizați au fost estimate ca fiind de la 6,000 până la 30,000 \$ (pe pacient) [108]. Această povară a rezistenței, totuși, probabil este datorată unei rate mai mari nepotrivite a tratamentului antimicrobian empiric asociat cu infecțiile cauzate de patogeni MDR decât cu virulența anumitor tulpini MDR [109].

Stafilococii reprezintă principalii agenți patogeni ai infecțiilor septico-purulente nosocomiale ale pielii și țesuturilor moi, în special *S. epidermidis* și *S. aureus* [110,111]. *Staphylococcus aureus* este o bacterie gram-pozitivă, fiind unul dintre principalii colonizatori ai pielii a aproximativ 30% din oamenii sănătoși. Infecțiile stafilococice pot avea o evoluție nefavorabilă din cauza unei agresivități sporite a tulpinii bacteriene, a unei capacități de apărare antiinfecțioasă a pacientului compromisă sau datorită dificultății de a trata un pacient infectat cu o tulpină rezistentă la antibiotice [26,112].

Importanța epidemiologică și clinică a *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilină (MRSA) este că reprezintă una din cauzele principale de morbiditate și mortalitate în întreaga lume, fiind cea mai frecventă cauză a infecțiilor nosocomiale (IN) [113,114]. Mortalitatea prin infecțiile cauzate de MRSA e dublă față de cea a infecțiilor cauzată de tulpini sensibile la metilicilină datorită întârzierii administrării unui tratament adecvat și a regimurilor inferioare de tratament [115]. Infecțiile cauzate de MRSA sunt endemice atât în spitale, cât și în comunitate, în toate regiunile lumii. Mecanismul principal de rezistență este datorat prezenței unei proteine suplimentare de legare a penicilinei, PLP2a codificată de gena *mecA* sau PLP2 recent descoperite care este codificată de gena *mecC*, care îi conferă tulpinii rezistență față de toate antibioticele β-lactamice, cu excepția clasei noi de cefalosporine, care au o afinitate suficient de ridicată față de PLP2a, și probabil și față de PLP2 codificată de gena *mecC*, astfel încât să fie active față de MRSA [116].

În anul 2009, Portugalia, Spania, Marea Britanie, Grecia, Ungaria, România au raportat că între 25% și 50% din tulpinile de *S. aureus* izolate de la pacienții cu IN sunt rezistente la metilicilină (oxacilină). Deja în 2012 în unele țări (Portugalia, România) situația s-a înrăutățit și mai mult, când tulpinile de *S. aureus* rezistente la metilicilină au depășit 50%. Totodată, în alte țări europene (Franța, Germania, Polonia) ponderea tulpinilor de *S. aureus* rezistente la metilicilină a constituit de la 10% până la 20%, și doar în Suedia, țară unde utilizarea antibioticelor este strict reglementată, n-a depășit 1% [10].

Dacă în multe țări din Europa, situația privind ratele MRSA e destul de îngrijorătoare, în SUA în perioada anilor 2005-2011, ratele globale a infecțiilor a MRSA a scăzut cu 31%, cea mai mare scădere de 54% s-a observat în rândul infecțiilor intraspitalicești. Succesul se datorează

prevenirii eficiente a infecțiilor septico-purulente nosocomiale a venelor centrale provocate de MRSA. Însă în ultimele decenii, ratele infecțiilor provocate de MRSA au crescut rapid în rândul populației generale. CDC a estimat că aproximativ 80.461 infecții invazive și 11.285 decese au fost provocate de MRSA în anul 2011 [1].

În anul 2012, un studiu efectuat în România, în care au fost implicate 10 laboratoare de spital, din 235 tulpini de *S. aureus*, 54,5% din aceste tulpini au fost rezistente față de meticilină, în creștere față de anul 2011, când nivelul MRSA a fost de 50,5%. De asemenea a fost testată sensibilitatea acestor tulpini și față de rimfapicină, nivelul fiind de 23,4% în creștere semnificativă față de 2011 când nivelul a fost de 7,9%. Rezistente la flurochinolone au fost 26,4% din 227 tulpini testate [112].

Începând cu sfârșitul anilor 1990, au apărut mai multe rapoarte despre colonizare și infecții cu MRSA în comunitate (CA-MRSA), care a implicat pacienți care au avut nici un contact recent cu instituții medicale [117,118,119]. Inițial s-a suspectat că acest cazuri reprezintă răspândirea tulpinilor spitalicești de MRSA (HA-MRSA) în comunitate. Deși tulpini de HA-MRSA circulă uneori în comunitate, tulpinile de CA-MRSA sunt transportatoare de tipul IV și V al complexului *SCCmec* și împărtășesc același fundal genetic ca tulpinile de *S. aureus* care nu erau transportatoare de *SCCmec* [120,121]. Tipul *SCCmec* IV frecvent a fost depistat și la *S. epidermidis*, care e o parte componentă a microflorei pielii oamenilor sănătoși, ceea ce a permis de a presupune că acest complex a fost transferat de către aceste microorganisme tulpinilor de *S. aureus* ce colonizează de asemenea pielea umană [122]. Aceste noi tulpini de CA-MRSA spre deosebire de cele HA-MRSA, sunt de obicei sensibile la clindamicină și alte antibiotice non- β -lactamice [119]. Ele de obicei poartă și 2 gene responsabile de sinteza leukocidinei Pantone-Valentine (PVL), o toxină ce intră în componența porilor, care a fost rar izolată la tulpinile HA-MRSA [119,123]. Câteva noi sindroame stafilococice au fost descrise și asociate cu CA-MRSA [124,125], variind de la infecții ale pielii și țesuturilor moi, care seamănă cu mușcătura unor arahnide [117,118,119], la infecții severe care amenință viața [125].

Mai mulți savanți au identificat izolatele care cauzează infecțiile CA-MRSA folosind o definiție bazată pe lipsa factorilor de risc de ai sănătății pacientului, definiție susținută de Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC) încă în anul 2000 [126,127]. Această definiție afirmă că un caz de infecție cu MRSA este comunitar, atunci când este diagnosticat în ambulatoriu sau în termen de 48 de ore de spitalizare, în cazul în care pacientul nu are următorii factori de risc tradiționali pentru infecția cu MRSA: hemodializa, intervenții chirurgicale, reședință într-o instituție medicală cu îngrijire pe termen lung, sau spitalizare în cursul anului precedent; prezența

unui cateter sau un dispozitiv percutanat atunci când au fost prelevate probele pentru cultură; sau izolarea anterioară a tulpinilor de MRSA.

Există însă mai multe probleme cu privire la utilizarea unei astfel de abordări bazate pe lipsa acestor factori de risc de asistență medicală. În primul rând, atât tulpinile CA-MRSA, cât și cele HA-MRSA circulă în comunitate. În al doilea rând, așa-numitele tulpini CA-MRSA devin treptat înrădăcinate ca agenți patogeni ai infecțiilor nosocomiale [128,129,130,131]. Această complexă schimbare epidemiologică ridică îndoieli cu privire la distincția dintre tulpinile CA-MRSA și HA-MRSA, bazată pe expunerea la asistență medicală, atât în practica clinică, cât și în cea a cercetărilor epidemiologice. În al treilea rând, au fost identificate noi grupuri cu risc înalt pentru colonizarea și infecția cu MRSA, printre care copii [117,118], atleți [132], deținuți [133], ș.a. grupuri.

Rezistența *S. aureus* față de linezolid, glicopeptide, daptomicină și tigeciclină este extrem de rară, de aceea în cazul în care testele microbiologice indică o astfel de situație este obligatorie o determinare corectă a concentrației minime inhibitoare (CMI) pentru confirmarea suspiciunii [112]. Conform datelor din literatură, fenotipul MLS_B constitutiv se asociază în principal cu metilino-rezistența și este cea mai frecventă formă de rezistență MLS_B la tulpinile MRSA. Fenotipul MLS_B inductibil se înregistrează în special la tulpinile metilino-sensibile [134]. Un studiu efectuat în anul 2013 a determinat că din 146 de *S. aureus* (18,5%), 27 tulpini au fost rezistente la metilina iar 4 tulpini au fost producătoare de enzime responsabile de rezistență inductibilă la clindamicină. Această enzimă a fost determinată și la alte microorganisme din genul *Staphylococcus* – 10 tulpini de *S. epidermidis*, 4 tulpini de *S. haemolyticus*, 2 tulpini de *S. hominis* și 1 tulpină de *S. warneri* [135].

Rezistența *S. aureus* față de vancomicină poate fi de nivel înalt (GRSA) care mediată de către gena *vanA* care este achiziționată exogen de la enterococi. Însă rezistența intermediară la glicopeptide (GISA) și heterorezistența față de glicopeptide (hGISA) e endogenă (mutații cromozomiale) și mecanismul e destul de complex, cu mai multe gene responsabile. În Europa, investigații recente privind prevalența tulpinilor cu sensibilitate redusă față de glicopeptide nu există. Raportul bazat pe o singură instituție a estimat că prevalența hGISA e $\leq 2\%$ din cea a MRSA, iar a GISA e sub 0,1%. GRSA încă nu a fost raportată în Europa, și e extrem de rară în lume [136].

Enterococii sunt o componentă normală a florei intestinale umane, dar pot fi responsabili pentru infecții serioase ca endocardite sau infecții complicate a tractului urinar. *Enterococcus faecalis* și *Enterococcus faecium* sunt agenți patogeni importanți ai infecțiilor septico-purulente nosocomiale și ocupă locul trei și patru al celor mai importanți agenți patogeni ai infecțiilor septico-purulente nosocomiale. Rezistența achiziționată, în special la penicilină/ampicilină,

aminoglicozide și glicopeptide e raportată la un număr tot mai mare de tulpini, care determină un spectru limitat de tratament [137]. Emergența și răspândirea enterococilor rezistenți, în special la vancomicină (VRE) reprezintă o problemă serioasă de sănătate publică [138,139].

Enterococii au remarcabilă abilitate de a se adapta la schimbările mediului înconjurător și de a achiziționa rezistență la antibiotice, ceea ce duce la apariția multiplelor fenotipuri de rezistență la vancomicină, dar și rezistență la ampicilină, aminoglicozide și alte antibiotice beta-lactame [140].

Toate speciile de *Enterococcus*, inclusiv cele cu o importanță clinică majoră ca *Enterococcus faecalis* și *Enterococcus faecium*, sunt în mod natural rezistente la o serie de antibiotice (cefalosporine, clindamicine, cotrimoxazole, aminoglicozide) [141].

Deoarece enterococii sunt toleranți la peniciline, carbapeneme și glicopeptide, succesul terapiei bactericide se bazează pe o combinație sinergică dintre agenți cu acțiune asupra peretelui celular și aminoglicozide (gentamicină sau streptomicină) care este pierdută de către tulpinile care achiziționează factori ce le conferă rezistență de nivel înalt (HLR) la aceste antibiotice. HLR la ampicilină/penicilină, care este cauzată de modificarea și/sau hiperproducția a unor proteine de legare a penicilinei (PBPs) este foarte rară la *E. faecalis* și aproape tot timpul prezentă la *E. faecium*. Pe de altă parte, HLR la aminoglicozide e în prezent la un nivel de 30 – 50% la enterococii izolați din infecțiile sanguine, și nu e frecvent întâlnită la enterococii izolați din endocardite. În acest ultim caz, combinația dintre ampicilină și ceftriaxone sau cefotaxime s-au dovedit a fi sinergice în studiile *in vitro* și în modelele pe animale *in vivo* și par să fie o schemă promițătoare pentru tratamentul endocarditelor [137,139,142].

În ultimele trei decenii, rezistența enterococilor la glicopeptide a devenit progresiv o problemă clinică majoră. Vancomicina a început a fi utilizată începând cu anii 1950, dar emergența rezistenței la *Enterococcus* spp. nu a fost reportată până în anul 1988, când a fost raportată în Marea Britanie și Franța. Creșterea utilizării vancomicinei pentru tratamentul infecțiilor cauzate de MRSA poate explica fenomenul. VRE s-au răspândit la început în Europa și America de Nord, astfel că în prezent în unele regiuni, peste 80% din tulpinile de *E. faecium* sunt rezistente la vancomicină [139].

Se cunoaște că VRE se pot răspândi eficient și să persiste în mediul spitalicesc și pot să colonizeze o mulțime de pacienți, însă nu toți vor face și infecții enterococice [143,144]. Ca și în cazul MRSA, contaminarea încrucișată și internarea pacienților deja colonizați sunt cauze importante a răspândirii VRE [114,145].

Rezistența clinică relevantă e cel mai des plasmidic-codificată de către ligazele VanA și VanB care înlocuiesc terminalul D-Ala din peptidoglican cu D-Lac. Această substituție reduce

legarea glicopeptidelor la ținta lor. Fenotipul VanA conferă rezistență față de vancomicină și teicoplanină, pe când tulpinile cu fenotipul VanB rămân de obicei sensibile la teicoplanină, datorită lipsei inducției rezistenței față de operon. Alte Van enzime cu o prevalență mai joasă sunt VanD, VanE, VanG, VanL, VanM și VanN [146,147,148,149]. Majoritatea cazurilor de infecții VRE din Europa și SUA sunt în prezent provocate de fenotipul VanA, în timp ce în Singapore și Australia tipul VanB este endemic [138].

Epidemiologia VRE pare să fie foarte diferită în SUA și Europa. În America de Nord rezervorul predominant e prezent în instituțiile medicale și erupțiile epidemice sunt frecvente. Spre deosebire, în Europa rezervorul principal al VRE a fost inițial reprezentat de către populația sănătoasă din comunitate, 2% - 10% dintre care erau purtători. Rezervorului comunitar, cel mai probabil a fost cauzat de utilizarea avoparcinei, o glicopeptidă asemănătoare cu vancomicina, cu rol de stimulator de creștere în industria agricolă în anii 1980 [150]. În prezent, epidemiologia acestor infecții se schimbă prin apariția erupțiilor în cadrul instituțiilor medicale, după cum a fost descris anterior în SUA [151,152].

Infecțiile provocate de VRE sunt o problemă particulară pentru secțiile de terapie intensivă din spitalele mari, unde ele cauzează o varietate de infecții (ex. endocardite, infecții sanguine, infecții urinare, ș.a.). Transmiterea lor poate avea loc prin contact direct cu pacientul colonizat sau infectat, sau prin contact indirect cu ajutorul mâinilor personalului medical, sau prin echipamentele critice contaminate de pacienți sau prin suprafețele din secții. Alți factori de risc ai transmiterii nosocomiale a VRE sunt: spitalizare îndelungată, utilizarea antibioticelor cu spectru larg de acțiune, antiacide, steroizi, severitatea unor boli de bază, intervenții chirurgicale anterioare și un nivel jos al albuminei [153]. Unele investigații sugerează că bacteriemia VRE poate servi mai degrabă ca marker al severității maladii decât ca factor de risc independent pentru mortalitate [154,155]. Mai multe studii au evidențiat că infecțiile cauzate de VRE sunt mult mai serioase și sunt asociate cu o rată înaltă de mortalitate și pierderi economice în comparație cu cele cauzate de enterococi sensibili la vancomicină (VSE) [156,157].

Cel mai des infecțiile enterococice sunt provocate de *E. faecalis* (80%), însă epidemiologia acestor infecții este variabilă, și *E. faecium* reprezintă în prezent până la 20% [26,137]. În Europa, datele supravegherii au arătat o variație mare a rezistenței între țări, rata VRE variind de la <2% (Finlanda, Olanda) până la 20% (Irlanda, Grecia, Portugalia) [26].

În SUA, conform datelor CDC din anul 2013, 77% din tulpinile de *E. faecium*, 9% din tulpinile de *E. faecalis* și 40% din tulpinile de *Enterococcus* (specia nefiind determinată) sunt rezistente la vancomicină. Aceste microorganisme au provocat un număr estimat de 20,000 de infecții, cu un număr de aproximativ 1,300 cazuri de deces [1].

Conforma datelor din România, în anul 2012 nu au fost raportate tulpini de *E. faecalis* rezistente la vancomicină sau linezolid. De asemenea nivelul rezistenței la ampicilină e scăzut – 3,64%, CI 95% (1%;12,3%) însă nivelul rezistenței la aminoglicozide e destul de ridicat – 41,8%. Rezistența de nivel ridicat la aminoglicozide este o constatare relativ frecventă; s-au dovedit a conserva sinergia cu penicilinele 58,2% din cele 55 de tulpini, CI 95% (45%;70,3%) [112].

O problemă serioasă reprezintă și diseminarea carbapenemazelor în Europa, care datează din a 2 jumătate a anilor 1990 în unele țări din regiunea Mediteraneană, și a fost observată în principal la *P. aeruginosa* [158]. La începutul anilor 2000, Grecia a suportat o epidemie provocată de către tulpinile de *K. pneumoniae* producătoare de metalobetalactamază plasmidică (VIM) [159], urmată de o epidemie provocată de tulpini de *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemaze (KPC), care e cea mai răspândită carbapenemază la Enterobacteriaceae [158]. În Grecia și Italia aproximativ 60% și respectiv 15%, din tulpinile de *K. pneumoniae* sunt rezistente față de carbapeneme [26]. În alte țări Europene au fost raportate câteva erupții, însă nu a prezentat o problemă gravă. O altă carbapenemază problematică e New Delhi metallo- β -lactamază (NDM), care are o prevalență înaltă în subcontinentul Indian și în Orientul Mijlociu și a fost importată cu mai multe ocazii în Europa. Tulpinile producătoare de carbapenemaza OXA-48 circulă endemic în Africa de Nord, Turcia, Orientul Mijlociu, și fiind importate în Europa au cauzat mai multe erupții în țări din Europa și în prezent se răspândesc rapid [158].

Carbapenemazele reprezintă o problemă majoră deoarece conferă rezistență față de practic toate β -lactaminele, și tulpinile producătoare de carbapenemaze frecvent posedă mecanisme de rezistență la o varietate mare de antibiotice, și infecțiile produse de Enterobacteriaceae sunt asociate cu rate mari de mortalitate [160,161,162].

Majoritatea carbapenemazelor sunt enzime achiziționate, codificate de către gene localizate pe plasmide [163,164]. Majoritatea microorganismelor producătoare de carbapenemaze sunt rezistente la cefalosporinele cu spectru extins (oxymino) [165].

În ultimii ani a crescut semnificativ rezistența microorganismelor gramnegative producătoare de β -Lactamaze cu spectru larg (ESBL – Extended-Spectrum β -Lactamases), enzime care hidrolizează majoritatea penicinelor și cefalosporinelor, inclusiv compușii oxymino- β -lactam (cefuroxime, cefalosporine de a treia și a 4 generație și aztreonam), preparate pe larg utilizate azi în practica medicală, însă nu față și de cefamicine sau carbapeneme [166].

Tulpini producătoare de ESBL au fost identificate pentru prima oară în 1983, și apoi au fost observate în întreaga lume. Această răspândire e rezultatul expansiunii clonale a organismelor producătoare a acestei enzime, transferului orizontal de gene ori plasmide ESBL, și mult mai rar,

apariția lor *de novo*. Din punct de vedere clinic, cele mai importante grupe de ESBL sunt enzimele CTX-M, urmate de ESBL SHV- și TEM-derivate [167,168].

Producția de ESBL a fost observată în principal la Enterobacteriaceae, la început în mediul spitalicesc, mai târziu în azile, și începând cu anii 2000 în comunitate. *Escherichia coli* și *K. pneumoniae* sunt speciile mai frecvent producătoare de ESBL. Însă, și alte specii de Enterobacteriaceae cu importanță clinică pot fi producătoare de ESBL. Diferite studii arată că prevalența tulpinilor producătoare de ESBL depinde de o serie de factori care includ specia, localizarea geografică, spitalul/secția, grupul de pacienți și tipul infecției [49,169]. Datele EARS-Net din 2012 au arătat că prevalența tulpinilor de *K. pneumoniae* rezistente la cefalosporinele de generația a treia depășește 10% în majoritatea țărilor Europene, iar în unele chiar și 50%. Pe baza testelor ESBL locale, se presupune că majoritatea acestor tulpini au fost producătoare de ESBL [26].

Majoritatea ESBL sunt enzime achiziționate, codate de gene sau plasmide. Enzimele ESBL achiziționate sunt exprimate la diferite niveluri, și diferă semnificativ prin caracteristicile biochimice cum ar fi activitatea specifică împotriva β -lactaminelor (ex. cefotaxime, ceftazidime, aztreonam). Nivelul expresiei și proprietățile enzimelor, coprezența altor mecanisme de rezistență (alte β -lactamaze, eflux, permeabilitate alterată) au ca rezultat o varietate largă de fenotipuri de rezistență observate la tulpinile producătoare de ESBL [166,167,170,171].

Un alt mecanism de rezistență întâlnit la microorganismele gramnegative reprezintă AmpC β -lactamaze care hidrolizează penicilinele, cefalosporinele (inclusiv cele de generația a 3, dar de obicei nu și de a patra generație) și monobactamele. În general, enzimele AmpC sunt slab inhibate de către inhibitorii clasici, în special acidul clavulanic. Prima tulpină producătoare de AmpC a fost identificată la sfârșitul anilor 1980, și de atunci s-au înregistrat în întreaga lume ca rezultat al răspândirii clonale și transferului orizontal al genelor AmpC [172].

Cei mai mari producători de enzime AmpC sunt *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella enterica* și *P. mirabilis*. Tulpinile cu aceste enzime au fost izolate atât de la pacienții din spitale, cât și la cei din comunitate, și au fost recunoscute la început ca enzime ESBL clasice în fermele de animale și fabricile de produse alimentare (la *E. coli* și *S. enterica*). Deși enzimele AmpC s-au răspândit rapid și au fost detectate de către studii multicentrice privind rezistența enterobacteriilor la cefalosporinele de generația a treia, frecvența lor generală a rămas mult mai joasă în comparație cu cea a ESBL. Totuși în unele regiuni și anumite condiții epidemiologice, ponderea microorganismelor producătoare de aceste enzime a crescut substanțial [172,173,174].

Conform datelor ECDC, majoritatea tulpinilor de *E. coli* raportate către EARS-Net în anul 2012 au fost rezistente la cel puțin 1 grupă de antibiotice care e inclusă în supraveghere. Rezistența

la aminopeniciline a fost raportată la 57,4% din tulpini, cu o variație de la 39,7% (Finlanda) până la 71,0% (Bulgaria). În perioada 2009 – 2012, s-a observat o tendință de creștere a rezistenței, care a fost statistic semnificativă în șase țări (Danemarca, Finlanda, Grecia, Italia, Olanda și Norvegia). E îngrijorătoare situația cu privire la creșterea rezistenței tulpinilor de *E. coli* la cefalosporine de generația a treia, aminoglicozide și rezistență combinată la trei grupe majore de antibiotice, la care majoritatea țărilor au raportat tendințe semnificative de creștere. La cefalosporine de generația a treia, media europeană a fost de 11,8% în anul 2012. Cel mai mic procentaj de tulpini rezistente s-a înregistrat în Suedia (4,4%), iar cel mai înalt în Bulgaria (38,1%). La fluoroquinolone, media nivelului de rezistență a fost de 22,3% în anul 2012, cu o variație de 9,7% (Islanda) până la 42,05 (Cipru și Italia). Tulpini de *E. coli* rezistente la carbapeneme se depistează rar, cu un nivel de rezistență sub 0,1%, dar sunt raportate cazuri în special în sudul Europei, în Bulgaria (2,6%) și Grecia (1,4%) [26]. Deoarece *E. coli* reprezintă o cauză frecventă a infecțiilor sanguine, procentajul mare de tulpini producătoare de ESBL și de tulpini cu rezistență combinată e o problemă de sănătate publică deoarece limitează numărul de tratamente alternative pentru pacienții cu aceste infecții care le amenință viața. Acesta poate duce la creșterea utilizării carbapenemelor, ceea ce poate duce ulterior la diseminarea de Enterobacteriaceae producătoare de carbapeneme (CPE) [175].

Un grup de microorganisme cu o pondere mare în structura etiologică a ISP și o antibioticorezistență mare constituie grupul microorganismelor nefermentative. Din acest grup, un interes deosebit prezintă *P. aeruginosa* și genul *Acinetobacter*, în special *A. baumannii* [176,177]. Frecvența infecțiilor septico-purulente nosocomiale provocate de către *Acinetobacter* spp. sunt în creștere în toată lumea. Dacă în anii 80 ai secolului trecut se înregistrau cazuri unice provocate de către *Acinetobacter* spp. [178,179], atunci în prezent această grupă de microorganisme sunt responsabile de până la 10% din infecțiile nosocomiale în țările din UE [180]. Primele descrieri ale cazurilor de infecții nosocomiale provocate de *Acinetobacter* în anii 70 s-au caracterizat printr-o rezistență înaltă față de multe antibiotice [181,182] și în prezent răspândirea lor capătă proporții tot mai mari [183,184]. Adicional la aceste lucruri, infecțiile provocate de acest grup de microorganisme se manifestă și printr-o letalitate înaltă (de ex., în caz de bacteriemie – până la 75%) [185].

În ultimii ani, microorganismele din genul *Acinetobacter* se caracterizează prin rezistență înaltă practic față de majoritatea grupelor de antibiotice [186,187]. Deși în foarte multe cazuri, singura grupă de antibiotice care și-a păstrat activitatea sunt carbapenemele, tot mai multe studii au raportat creșterea alarmantă a rezistenței față de această grupă de antibiotice a tulpinilor nosocomiale de *Acinetobacter* spp. [186,188,189,190].

Tulpinile nosocomiale de *Pseudomonas* și *Acinetobacter* spp. sunt frecvent rezistente la o gamă largă de antibiotice. Prevalența lor pare să fie în creștere în toată lumea, în special ca cauză a pneumoniilor asociate ventilației artificiale la populația cu risc major, ca pacienți cu arsuri severe [191]. Sistemul respirator este sursa cea mai importantă a tulpinilor de *Pseudomonas* izolate, urmat de plăgi, urină și sistemul sanguin [192]. *Pseudomonas* sunt în mod natural rezistente la majoritatea antibioticelor; cei mai activi agenți fiind carbapenemele, piperacilina, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacina, amikacin și tobramicin [192]. Antibioticorezistența se dezvoltă rapid sub presiunea selectivă, și multiple mecanisme sunt responsabile de rezistență: (hiper)-producție de enzime, pompe de eflux activ și schimbarea permeabilității. Conform studiului NNIS, spre exemplu, tulpinile din secțiile de terapie intensivă au fost rezistente la fluoroquinolone în 27% și în 18% la imipinem [193]. În plus, rezistența încrucișată între fluoroquinolone și alte antibiotice, cum ar fi piperacilină-tazobactam, ceftazidim, și tobramicină este o problemă frecventă [192,194].

Conform datelor CDC din anul 2013, aproximativ 8% din toate infecțiile nosocomiale raportate au fost cauzate de *Pseudomonas aeruginosa*. Aproximativ 13% din infecțiile nosocomiale grave au fost cauzate de tulpini *Pseudomonas aeruginosa* MDR, adică un număr estimat de 6,700 de infecții, cu un număr estimat de 440 de decese [1].

Conform datelor ECDC, în anul 2012, media europeană de rezistență a tulpinilor de *P. aeruginosa* la piperacilină ($\pm$ tazobactam) a fost de 19,80%, cu o variație de la 3,1% (Marea Britanie) la 47,5% în România. La ceftazidim, media europeană de rezistență a fost de 13,5%, variind de la 2,8% (Olanda) la 48,60% (România). Rezistența medie europeană la fluoroquinolone a fost de 21,0%, variind de la zero (Malta) la 56,3% (Slovacia). Media europeană a rezistenței la aminoglicozide a fost de 18,4%, variind de la 0% (Islanda) la 48,8% (România). Nivelul mediu european de rezistență la carbapeneme a fost de 17,1%, variind de la 3,2% (Malta) la 51,2% (România) [26].

Pacienții din secțiile de terapie intensivă, datorită statusului lor imuncompromis, au un risc major de a dezvolta candidoze invazive [195,196]. Problema principală a MDR în candidoze rezultă din schimbarea structurii etiologice de la *C. albicans* la tulpini non-*albicans*, ca *C. krusei* intrinsec rezistente la fluconazole, sau *C. glabrata* sensibilă în funcție de doză [197]. Leroy ș.a. au depistat că aproximativ jumătate din candidozele invazive (N=300) din secțiile de terapie intensivă au fost provocate de specii non-*albicans* și sensibilitate scăzută la fluconazole a fost observată la 17% din toate izolatele de *Candida* [198].

CDC a estimat că aproximativ 46.000 de infecții nosocomiale provocate de *Candida* apar printre pacienții internați în SUA în fiecare an. Aproximativ 30% din pacienții cu infecții ale fluxului sanguin (candemie) provocate de *Candida* rezistente la antimicrobiene, mor pe durata

spitalizării lor. Fiecare caz de infecție provocată de Candida are ca rezultat o spitalizare adițională de 3-13 zile, cu un total de 6.000\$ - 29.000\$ în costurile directe de spitalizare. Aproximativ 7% din tulpinile de Candida care au provocat infecții sanguine au fost rezistente la fluconazol, adică un număr estimat de 3.400 de infecții anual și cu 220 de decese [1].

1.4. Problema eficientizării monitoringului antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale.

Supravegherea rezistenței antimicrobiene a agenților patogeni umani frecvent izolați poate ajuta la dezvoltarea terapiei raționale [24]. Studiile efectuate în cadrul spitalului pot fi un ghid pentru utilizarea locală a agenților antimicrobieni, iar studiile mai mari pot colecta tulpinile izolate pentru testarea rezistenței lor într-un laborator central de microbiologie. Datele colectate de la astfel de studii pot fi folosite pentru a ghida microbiologii și specialiștii în boli infecțioase în controlul și limitarea răspândirii microbilor patogeni rezistenți la antibiotice.

Cu toate că antibioticele au început a fi utilizate din anii 1940, studii de supraveghere multicentrice coordonate nu au fost efectuate până la începutul anilor 1990. Unul din primele studii de acest fel a fost proiectul Alexander care s-a început în anul 1992 și s-a focusat pe infecțiile sistemului respirator [199].

După ce laboratoarele au început a testa rezistența tulpinilor de bacterii la pacienții infectați, au apărut și noi utilizări pentru rapoartele acumulate. Personalul medical a dorit să știe ratele locale privind rezistența pentru a putea prezice cel mai bun tratament pentru infecțiile provocate de microorganismele care au fost izolate sau încă nu au fost testate [200].

Un alt scop al programelor de control și supraveghere a infecțiilor ar trebui să fie concentrarea eforturilor în scopul de a localiza pacienții cu tulpini rezistente pentru a preveni răspândirea lor [201].

În rezultatul creșterii volumului de rapoarte gratuite s-a redus costul supravegherii, lucru care a oferit posibilitatea de a efectua analize epidemiologice mult mai detaliate și complexe [202].

Supravegherea rezistenței era inițial plictisitoare și limitată fiindcă era bazată pe datele tipărite pe hârtie. Computerele au facilitat obținerea datelor și efectuarea mai multor tipuri de analiză. Primele aplicații au inclus afișarea grafică a valorii rezistenței, mecanismele de rezistență, tendințele rezistenței în timp, compararea internațională a ratelor rezistenței [203].

O altă problemă privind supravegherea rezistenței microbiene este finanțarea acestor studii. Majoritatea datelor necesare pentru efectuarea supravegherii antibioticorezistenței microbiene sunt deja plătite înainte de a efectua supravegherea. Fiecare dintre rapoartele primite de la mii de laboratoare cu privire la microorganismele izolate de la milioanele de pacienți au fost produse

pentru beneficiul unui singur pacient și au fost plătite de către pacient sau de către sistemul medical. Aceste rapoarte au început a fi reutilizate pentru efectuarea supravegherii fără costuri suplimentare sau foarte mici pentru unele laboratoare și pot fi utilizate în toate laboratoarele [204].

În lume există și sisteme de supraveghere finanțate de către organizații private sau publice. De obicei, companiile farmaceutice prin intermediul fondurilor private finanțează laboratoare de referință specializate pentru a efectua supravegherea antibioticorezistenței (ex. SENTRY [205], MYSTIC [206], TRUST [207], SMART [208]). Aceste laboratoare de obicei retestează față de antibiotice tulpinile de microorganisme selectate și transmise de către laboratoarele din spitale, prin utilizarea unui control strict, dar și cu ajutorul metodelor moleculare pentru a detecta mecanismele de rezistență, sau noi agenți [209].

Identitatea microorganismului ce infectează un pacient este de obicei neclară atunci când pacientul se adresează prima oară pentru asistență medicală. Diagnosticul inițial este dedus în mare parte în baza ratelor microbilor care au provocat infecții asemănătoare la alte persoane în condiții similare [210].

Terapia inițială pentru un pacient infectat este necesară de a fi ghidată pe baza supravegherii mai mult decât diagnosticul inițial. Diagnosticul inițial este în esență o listă scurtă cu tipurile de microorganisme cu care ar putea fi infectat pacientul, microorganismele fiind alese dintre toate tipurile de microorganisme care ar fi putut infecta alți pacienți cu simptome asemănătoare. În baza acestor rapoarte e posibil de selectat un antibiotic care să fie folosit în tratament. Apoi se începe un ciclu, atunci când laboratorul raportează identitatea și antibioticorezistența microorganismului care a infectat pacientul. Acest raport furnizează date cu privire la cel mai bun antibiotic care îl poate înlocui pe cel ales empiric în primele 1-2 zile de așteptare a raportului. Apoi acest raport poate fi inclus în baza de date pentru a estima cel mai bun tratament empiric pentru viitorii pacienți, în special în primele zile [211].

Această supraveghere folosită pentru prezicerea tratamentului, exprimată în %RIS a antibioticogramei, e cea mai răspândită metodă de supraveghere. Astfel că această metodă prezice cel mai bun tratament inițial. De asemenea urmărește variația prevalenței microorganismelor și a antibioticorezistenței lor în funcție de locație, însă în special în funcție de spital, pentru a vedea diferența dintre tulpinile nosocomiale și a consumului de antibiotice. Această supraveghere trebuie să fie locală, însă orice centru va beneficia de integrarea multicentrică care le va permite să evalueze gravitatea problemei, prin comparație cu alte instituții și să atragă atenția la tendințele și problemele noi care au apărut la alții, iar regiunile care nu dispun de resurse pentru testarea microorganismelor, terapia antimicrobiană trebuie să se bazeze doar pe informațiile sub formă de %RIS primite de la laboratorul de referință [212].

Un alt scop al supravegherii antibioticorezistenței microbiene este de a ghida comitetele farmaceutice și factorii de decizii politice la nivel național pentru a determina care antibiotice sunt disponibile de a fi selectate de către personalul medical și care antibiotice vor fi incluse în ghidurile privind tratamentul empiric care vor fi folosite de către personalul medical pentru a trata fiecare tip de infecție [25].

Supravegherea antibioticorezistenței microbiene e necesară personalului pentru controlul infecțiilor pentru a identifica și a raporta infecțiile intraspitalicești, dar și pentru a urmări și a stopa răspândirea tulpinilor nosocomiale care pot infecta pacienții [213]. Supravegherea tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții dintr-un spital se concentrează pe identificarea, izolarea și decolonizarea pacienților care sunt infectați cu ele. Până în prezent, singurele tulpini care erau supravegheate, erau izolate cu scopul de diagnostic și tratament doar de la pacienții infectați. Realizarea faptului că pacienții neinfecțați, dar colonizați cu tulpini nosocomiale pot fi o verigă tăcută în răspândirea lor, determină multe spitale să îmbunătățească supravegherea prin prelevarea de probe de la pacienții neinfecțați [214].

Tulpinile de microorganisme multirezistente nosocomiale, plasmide sau clone care circulă printre pacienții dintr-un spital pot să fi apărut cu mai mulți ani mai devreme în altă parte a lumii și să se fi răspândit prin intermediul unui lanț de gazde, oameni sau animale, până când cineva le-a adus în spital. Aceasta e valabil pentru așa probleme grave ca MRSA și VRE, ș.a., dar și pentru alte microorganisme polirezistente [215,216].

Odată ce aceste clone se răspândesc nosocomial în spitale, infecțiile provocate de ele aduce la creșterea morbidității, mortalității și a costurilor, iar stoparea lor devine o problemă majoră pentru echipele de control a infecțiilor intraspitalicești [217].

Programele de supraveghere existente compară de obicei ratele antibioticorezistenței microbiene, însă datele lor ar putea fi folosite pentru a monitoriza noile mecanisme de rezistență cu scopul controlului infecțiilor într-o regiune. Tulpinile ori plasmidele cu un nivel nou de rezistență la antibiotice au un fenotip nou de rezistență și pot avea în plus și markeri distincți. Majoritatea programelor de supraveghere microbiene existente de obicei compară nivelurile antibioticorezistenței microbiene, însă datele lor ar putea fi folosite pentru a urmări apariția noilor mecanisme de rezistență cu scopul controlului răspândirii lor într-un teritoriu [218].

Programele de supraveghere a antibioticorezistenței pot de asemenea să îmbunătățească calitatea rezultatelor, deoarece ele impun teste de control a calității interne și externe în cazul în care ele nu au fost implementate în trecut și de asemenea pot oferi materiale de studiu pentru perfecționarea cunoștințelor personalului [219,220].

Datele obținute de la alte centre care participă în sistemul de supraveghere pot spori siguranța pacienților dintr-un centru prin evaluarea comparativă și prioritizarea problemelor mai relevante și monitorizare pentru a avertiza despre apariția noilor probleme într-o regiune [27,28].

Participarea laboratorului într-o rețea de supraveghere mărește numărul de tulpini dintr-o regiune și permite de a urmări tendințele și apariția focarelor mult mai devreme. De asemenea reduce riscul de apariție și răspândire pe nevăzute a noilor clone de tulpini rezistente la antibiotice [221].

La nivel mondial, o serie de studii de supraveghere au furnizat date științifice suplimentare cu privire la rezistența antimicrobiană. Aceste studii sunt: EARS-net, PROTEKT, SENTRY și TEST [222].

Monitorizarea antibioticorezistenței implică importante resurse financiare și intelectuale, iar coordonarea și armonizarea acestor resurse a început să capete o atenție sporită în rândul priorităților societăților științifice, agențiilor de sănătate publică și a legislatorilor [223].

Datele testării de rutină au o reprezentare în populație și reprezintă o sursă enormă de date accesibile, ieftine și uneori exploatată insuficient [224].

Supravegherea antibioticorezistenței se poate baza pe datele de rutină doar atunci când există un flux constant de probe destinate pentru testare în laborator [225].

Supravegherea implică colectarea sistematică și analiza indicatorilor de sănătate, și diseminarea lor către cei care le vor utiliza în procesul de luare a deciziilor în problemele de sănătate publică.

Supravegherea efectivă e un fundament al eforturilor naționale și internaționale pentru a controla antibioticorezistența. Rolul de bază al supravegherii a fost recunoscut în Strategia Globală de stopare a antibioticorezistenței a OMS din 2001, în care supravegherea rezistenței, consumului de antibiotice și a poverii bolilor sunt elementele de bază. Importanța lor a fost din nou subliniată de către OMS cu ocazia Zilei Internaționale a Sănătății din 2011. Datele rezultate din supraveghere pot fi utilizate pentru a îmbunătăți utilizarea rațională a antibioticelor la nivel local și de a identifica prioritățile pentru acțiuni la nivel local, dar în același timp de a oferi un suport valoros pentru politicile de la nivel regional și global [226]. Există variații mari între regiuni și țări, chiar și în interiorul țărilor privind capacitatea supravegherii antibioticorezistenței. Cu toate că multe țări au făcut progrese considerabile în domeniul supravegherii antibioticorezistenței, există și limite cu cauze financiare și a resurselor tehnice și metodologice.

Supravegherea continuă și de rutină a antibioticorezistenței permite efectuarea analizei privind proporția rezistenței la antibiotice a microorganismelor care infectează sau colonizează persoanele dintr-o locație într-o anumită perioadă de timp [226].

Supravegherea antibioticorezistenței este totodată o parte fundamentală a unui răspuns efectiv față de această amenințare, și rezultatele supravegherii constituie o sursă esențială de informații cu privire la magnitudinea și tendințele rezistenței [26].

1.5. Măsuri de optimizare a sistemului de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulente nosocomiale.

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

Sucesiunea de tehnologii inovative pentru determinarea secvențelor specifice sau a secvențelor mai lungi de nucleotide au permis identificarea genotipică a microbilor până la nivel de specie și de a identifica genele și elementele genetice care codifică rezistența microorganismelor la antibiotice. Aceste tehnologii care s-au început cu scindarea electroforetică a lanțului de nucleotide în segmente de către enzime, la început a plasmidelor și mai apoi a întregilor cromozomi cu ajutorul electroforezei pe gel în câmp pulsant. Au apărut apoi sonde nucleotidice, PCR, secvenționarea individuală a genelor ori a multilocusurilor (MLTS) de gene și în prezent au început să apară tehnici de secvenționare a întregului genom [227]. Aceste metode sunt folosite în special de către laboratoarele de referință și încă sunt departe de a fi folosite de către spitale sau programele regionale de control a infecțiilor.

Progresele în informatică din ultimele decenii au condus la dezvoltarea rețelelor de supraveghere a antibioticorezistenței prin reducerea muncii participanților și extinderea beneficiilor. Cu toate acestea, se pare că supravegherea la zi utilizează prea puțin din rapiditatea răspândirii tehnologiilor informaționale și aici sunt oportunități mari pentru îmbunătățire. Baze web de date securizate pot face ca supravegherea să devină automată, să ofere o analiză în timp real și să alerteze nivelele responsabile și stimularea participării în program [228].

Problema antibioticorezistenței microbiene a fost conștientizată încă la începutul anilor 70 ai secolului trecut, iar prima rezoluție a Asambleei OMS care a atras atenția la utilizarea eficientă a medicamentelor, în special a antibioticelor a fost adoptată în anul 1984 [11]. Asamblaea OMS a adoptat și alte rezoluții [12], iar în 2001, a adoptat rezoluția „Strategia globală privind limitarea rezistenței față de antibiotice” [13] care conține principalele direcții privind supravegherea și controlul în acest domeniu. Ca urmare a acestor rezoluții, în 2005 Asamblaea OMS în rezoluția WHA58.27 a atras atenția privind necesitatea modernizării metodelor îndreptate spre rezolvarea problemei în creștere a antibioticorezistenței microbiene [14], iar în 2011, OMS a anunțat anul

luptei cu antibioticorezistența sub sloganul „Nu vom lua măsuri azi – nu vom avea cu ce trata bolnavii mâine”.

Pentru a dezvolta o strategie de control a rezistenței la antibiotice la nivel internațional, 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].

În anul 2011, Comitetul Regional European a aprobat „Planul Strategic de acțiuni în problema rezistenței la antibiotice” (rezoluție EUR/RC61/R6), care prevede acțiuni strategice concrete în scopul reducerii, prevenirii și luptei cu rezistența la antibiotice.

Supravegherea antibioticorezistenței la nivelul Uniunii Europene e bazată pe legile Europene: antibioticorezistența microbiană a fost formulată ca o problemă specială de sănătate în Anexa 1 a Comisiei de Decizie 2000/96/EC privind bolile infecțioase, care a fost înlocuită progresiv de către rețeaua Comunitară prin Decizia N. 2119/98/EC a Parlamentului și Consiliului European [229]; supravegherea antibioticorezistenței microbiene în EU/EEA e efectuată în concordanță cu Regulamentul (EC) n. 851/2004 a Parlamentului European și a Consiliului European din 21 aprilie 2004 care a pus bazele Centrului European de Prevenire și Control al Maladiilor (ECDC) [230]. Pe parcursul anilor, necesitatea statelor de a colabora în domeniul supravegherii antibioticorezistenței a fost consolidată de mai multe concluzii ale consiliului, inclusiv Concluzia Consiliului privind Antibioticorezistența microbiană din 10 iunie, 2008 și cea mai recentă concluzie privind impactul antibioticorezistenței microbiene asupra sănătății umane și a sectorului veterinar – perspectiva o „singură Sănătate” din 22 iunie 2012 [231].

Capacitatea laboratorului și tehnologiile informaționale la nivelul corespunzător sunt imperative pentru generarea, colectarea, analiza și schimbul de date [232]. Laboratoarele competente lipsesc în continuare, în special în țările cu venituri mici [233]. Studiul mondial efectuat de OMS în 2007 a constatat că în general doar 61% din participanți care au furnizat date au laboratoare naționale de referință pentru supravegherea antibioticorezistenței (55% în țările cu venituri mici, 55% în cele cu venituri medii, și 84% în țările cu venituri mari) [234]. Calitatea rezultatelor testelor de laborator este fără îndoială esențială la valoarea supravegherii. Aceasta necesită ca laboratoarele să desfășoare programe privind controlul calității interne și să participe în programe privind controlul calității externe. Multe țări au deja implementate așa sisteme [235].

Pentru a facilita analiza datelor privind testarea antibioticosensibilității/rezistenței față de antibiotice, WHO Collaborating Centre for Surveillance of AMR at Brigham and Women's Hospital in Boston, USA a dezvoltat și perfecționat programul WHONET, care e folosit în peste

1500 de laboratoare din peste 100 de țări în laboratoare din clinică, sănătate publică, veterinarie și securitatea alimentelor. Analiza electronică a rapoartelor poate fi efectuată rapid, bazată pe informațiile introduse despre pacienți. Modulul SaTScan[™] integrat în WHONET permite detecția erupțiilor atât comunitare, cât și spitalicești [236,237].

Supravegherea în sine, nu reduce nivelul antibioticorezistenței microbiene, însă datele colectate pot fi utilizate pentru a urmări emergența și răspândirea tulpinilor rezistente, să promoveze conștientizarea, și cel mai important aspect oferă „informație pentru acțiune” la nivelele spitalicesc, național și internațional pentru a reduce ori a promova utilizarea adecvată a antibioticelor [226].

Multe instituții medicale au elaborat Programe de Administrare a Antibioticelor (ASPs) cu scopul de a optimiza terapia antimicrobiană, de a reduce costul tratamentului, de a îmbunătăți rezultatele clinice și siguranța, și de a reduce ori a stabiliza antibioticorezistența microbiană [238]. În anul 2007, astfel de program a fost elaborat de Societatea Infecționiștilor din America (IDSA), împreună cu Societatea Epidemiologilor de Spital din America (SHEA) [239]. De obicei, astfel de programe sunt executate de echipe multidisciplinare de utilizare a antibioticelor, în componența cărora intră medici, farmaciști, microbiologi, epidemiologi și infecționiști, cu experiență adecvată în domeniul lor. Mai multe studii au demonstrat că ASPs au potențialul de a limita emergența și răspândirea rezistenței [240]. ASPs se bazează în principal pe educație, asociată cu intervenții de „prima linie” (ex. restricții cu privire la disponibilitatea selectării antibioticelor) sau intervenții de „linia a doua” (revizuirea tratamentului empiric cu antibiotice de spectru larg sau întreruperea terapiei pe baza rezultatelor investigațiilor microbiologice sau a răspunsului clinic) [241,242]. În intervențiile de „prima linie” pot fi incluse următoarele aspecte: (i) elaborarea unor ghiduri cu privire la tratament în condiții specifice; (ii) educația medicilor care prescriu antibiotice; (iii) testarea sensibilității antimicrobiene; (iv) identificarea corectă a microorganismelor; (v) înțelegerea proprietăților farmacocinetice (PK) și farmacodinamice (PD) a medicamentelor ceea ce ajută la selectarea corectă a dozei și a duratei de administrare a antibioticelor; (vi) minimizarea efectelor antibioticelor asupra microflorei și homeostaziei imune a pacientului; (vii) formularea restricțiilor și a preautorizărilor. Formularea restricțiilor și a preautorizărilor sunt considerate ca strategia principală în ghidurile IDSA/SHEA [239] și o serie de studii au arătat că această strategie s-a dovedit a fi de succes în reducerea utilizării antibioticelor și a cheltuielilor farmaciilor [241,243,244,245]. Înțelegerea proprietăților PK și PD a antibioticelor de asemenea e un factor important [246,247]. În anul 1976, Stamey ș.a. au demonstrat, pentru prima dată, relația directă dintre subdozarea antibioticelor și emergența rezistenței antimicrobiene [248]. Ei au arătat creșterea directă a numărului de tulpini rezistente la acid nalidixic în legătură cu descreșterea

concentrației acidului nalidixic. Din momentul desfășurării acestui studiu de pionierat, rezultate similare au fost raportate, și în prezent, în general e acceptată ideea că utilizarea antibioticelor în concentrații mici pe o perioadă lungă de timp este o modalitate optimă de a îmbogăți populația bacteriilor rezistente [249]. Pentru determinarea dozei optime cu un risc minim de inducere a rezistenței, sunt utile două puncte de referință – concentrația minimă inhibitorie (MIC) și concentrația de prevenire a mutațiilor (MPC) [250]. Emergența rezistenței are loc în cadrul așa numitei ferestre de selecție a mutantelor (MSW): limita inferioară corespunzătoare a MIC a microorganismelor sensibile și MPC, care restricționează creșterea întregii populații, inclusiv a mutantelor rezistente. Prin utilizarea atentă a conceptului PK/PD și a strategiei MPC, eficiența antibioticelor poate fi optimizată și selecția mutantelor rezistente limitată. Emergența unei subpopulații rezistente în cadrul unei populații sensibile de tip sălbatic poate fi restricționată prin utilizarea unei doze de antibiotice care e suficient de mare pentru a inhiba atât bacteriile sensibile, cât și cele rezistente. Cu toate că MSW a fost determinată pentru multe antibiotice [251], datele disponibile continuă să fie insuficiente, și sunt necesare eforturi suplimentare pentru caracterizarea deplină a acestor concentrații țintă de antibiotice.

Testarea sensibilității la antibiotice de asemenea e o componentă importantă pentru predicția rapidă și sigură a succesului tratamentului infecțiilor bacteriene și a prevenirii dezvoltării antibioticorezistenței. Cele mai convenționale metode sunt cele care fenotipic depistează rezistența prin măsurarea creșterii bacteriene în prezența antibioticului la care se testează [252]. În intervențiile de „linia a doua”, pot fi incluse următoarele aspecte: (i) decizie clinică bazată pe dovezi; (ii) revizia prescrierii medicale și feedback; (iii) elaborarea protocoalelor pentru de-escaladarea terapiei bazate pe rezultatele testelor privind sensibilitatea la antibiotice și a răspunsului clinic; (iv) teste de diagnostic cu utilizarea biomarkerilor ca proteina C-reactivă (CRP); (v) determinarea duratei terapiei; (vi) heterogenitatea antibioticelor (rotație sau amestec) [239].

Heterogenitatea antibioticelor, cum ar fi ciclarea antibioticelor (de asemenea cunoscută ca „rotația antibioticelor”) sau amestecul antibioticelor (de asemenea cunoscută ca „diversitatea antibioticelor”), continuă să fie o temă de dezbatere, deși mulți cercetători au studiat efectele lui asupra antibioticorezistenței microbiene cu ajutorul investigațiilor clinice sau a modelelor teoretice [253,254,255]. Rotația antibioticelor implică schimbarea unei clase de antibiotice cu o altă clasă diferită dar care posedă un spectru similar de acțiune, dar cu un mecanism diferit al antibioticorezistenței (ex. β -lactamine, aminoglicozide, și fluorochinolone) [253]. În teorie, se pare că astfel de strategii pot bloca puternic formarea unei populații rezistente stabile, însă dovezile clinice nu justifică modelul prognozat [256]. În 2004, modelarea matematică a sugerat că rotația

antibioticelor e puțin probabilă să reducă antibioticorezistența microbiană, și amestecarea antibioticelor s-ar putea dovedi mult mai eficientă [257].

Totuși, alte rapoarte din 2010 susțin că teoretic, e optimal de a selecta rotația antibioticelor pentru a reduce antibioticorezistența microbiană [258]. De fapt, rapoartele recente arată că o strategie îmbunătățită de rotație a antibioticelor poate reduce antibioticorezistența microbiană [259,260,261,262]. Monitorizarea și supravegherea periodică a antibioticelor, e o nouă strategie care e bazată pe heterogenitatea antibioticelor [253,254,262]. Deciziile de prescriere sunt supravegheate de către o echipă multidisciplinară de administrare a antibioticelor, care include doi medici infecționiști, un farmacist și un specialist în controlul bolilor infecțioase. Pe durata acestei supravegheri, clasele de antibiotice care sunt „recomandate”, „restricționate” și „nesupravegheate” erau schimbate o dată la 3 luni, în dependență de utilizarea antibioticelor în perioada precedentă și de incidența rezistenței. Aceasta e o strategie în timp real de rotație a antibioticelor deoarece decide ce clase de antibiotice sunt „recomandate”, „restricționate” și „nesupravegheate” în baza rezultatelor în curs de studiu, și nu de la începutul studiului. Rezultatele obținute în urma acestei supravegheri a arătat că această strategie are un succes semnificativ [262]. Succesul ei depinde probabil de monitorizarea în timp real a incidenței rezistenței; astfel, pentru îndeplinirea cu succes a acestei strategii complexe, poate fi necesară dezvoltarea unor metode eficiente și solide de monitorizare și supraveghere a calității [253]. Deși câteva rapoarte au demonstrat utilitatea strategiei de rotație a antibioticelor [246,247,263], sunt necesare mai multe studii pentru a demonstra eficacitatea strategiei. O mare parte a succesului a ASPs depinde de educația clinicienilor, mai ales în luarea deciziilor zilnice cu privire la tratament. [264]. Este demn de remarcat faptul că aproape orice clinician poate prescrie antibiotice fără nici o reglementare sau certificare, în timp ce numai specialiști în oncologie pot prescrie și administra medicamente anti-cancer [238]. Pentru a optimiza prescrierea antibioticelor, cei care le prescriu trebuie să posede cunoștințe generale de medicină, virulența microorganismelor, imunologie și factori genetici ai gazdei, proprietățile PK și PD ale medicamentelor și cunoștințe de bază în epidemiologie. S-a estimat că aproximativ 50% din antibioticele prescrise, atât în comunitate, cât și în spitale, pot fi considerate inadecvate (doza inadecvată sau durata greșită a tratamentului) [239,264].

1.6.Concluzie la capitolul I

Antibioticorezistența microbiană prezintă o problemă majoră de sănătate publică la zi, în special în ce privește infecțiile nosocomiale, patologie care se deosebește prin multitudinea de agenți cauzali, ușor adaptabili la antibiotice. O rezolvare a problemei ar constitui crearea și implementarea sistemelor informaționale de monitorizare permanentă a nivelului antibioticorezistenței microbiene în staționarele medicale.

MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a lotului de investigație

Cercetările prezentate în lucrare au fost efectuate în baza investigațiilor bacteriologice efectuate în anii 2010 și 2013 în laboratorul microbiologic al Centrului Național Științifico-Practic de Medicină Urgentă, care este un spital multiprofil.

Tulpinile de microorganisme cercetate au fost izolate de la pacienții cu ISP internați în cadrul următoarelor secții:

- Chirurgie aseptica nr. 1 și nr. 2;
- Chirurgie septică nr. 3;
- Traume asociate, ortopedie, traumatologie aseptica n.1, 2;
- Traumatologie septică nr.3;
- Anesteziologie, terapie intensivă și reanimare;
- Urologie;
- Chirurgie maxilo-facială;
- Neurologie și boli cerebrovasculare;
- Neurochirurgie nr. 1, 2;
- Alte secții (Microchirurgie, Ginecologie, Hematologie, Oftalmologie, Ambulatoriu)

În total au fost analizate 6943 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 1057 tulpini cu ajutorul analizatorului microbiologic automat VITEK 2 Compact.

2.2. Metodele de cercetare aplicate în studiu

Metodele microbiologice

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.

S-au folosit cutii Petri cu mediul de cultură Mueller-Hinton, cu o grosime de $4\text{ mm} \pm 0.5\text{ mm}$ (aproximativ 25 ml într-o cutie circulară plată de 90 mm). Acest mediu permite dezvoltarea optimă a unei varietăți mari de germeni și nu conține inhibitori ai acțiunii unor substanțe

antimicrobiene. Standardizarea suspensiei inoculului s-a efectuat conform etalonului 0,5 McFarland. Apoi s-au aplicat discurile cu agenți antimicrobieni, la distanță de minimum 15 mm de marginea plăcii și 30 mm între centrele a două discuri vecine, folosindu-se o pensă. Pe o placă cu diametrul de 90 mm pot fi depuse 5 discuri cu agenți antimicrobieni. Apoi plăcile au fost incubate la temperatura de 37°C pentru 16-18 ore, după care s-au citit rezultatele. S-a folosit un set manual de antibiotice, specific pentru fiecare tip de microorganisme.

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).

Cardurile sunt realizate pe baza unor metode biochimice confirmate și a unor substraturi care măsoară utilizarea sursei de carbon, activitățile enzimatică și rezistența. Pe cardurile gramnegative se găsesc 47 de teste biochimice și un godeu martor negativ și rezultatele finale sunt disponibile în aproximativ 10 ore sau mai puțin. Pe cardurile grampozitive se găsesc 43 de teste biochimice, iar rezultatele sunt disponibile în aproximativ opt ore sau mai puțin.

VITEK 2 Systems identifică un microorganism prin utilizarea unei metodologii bazate pe caracteristicile datelor și pe cunoștințele despre microorganism și despre reacțiile care sunt analizate. Cardurile nu pot fi utilizate direct cu o probă sau cu o mostră clinică sau cu alte surse care conțin o floră bacteriană mixtă. Cardul pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni pentru VITEK 2 Compact reprezintă o metodologie de testare automatizată bazată pe tehnica CMI.

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 utilizate 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 folosite 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.

Formula utilizată pentru calculare este:

$$B\left(\frac{\alpha}{2}; x, n-x+1\right) < \theta < B\left(1 - \frac{\alpha}{2}; x+1, n-x\right)$$

unde:

α – eroarea – 5%, pentru intervalul de încredere 95%

n – numărul de probe

x – numărul de rezultate pozitive

θ – probabilitatea succesului

Criteriul t student a fost folosit pentru compararea a 2 exprimări procentuale, conform formulei:

$$\sigma_D = \sqrt{\frac{P_{e1} \cdot Q_{e1}}{n_1 - 1} + \frac{P_{e2} \cdot Q_{e2}}{n_2 - 1}}$$

unde:

σ_D – eroarea dispersiei;

P_{e1} ; P_{e2} – procentul evenimentelor favorabile în cadrul eșantionului 1, respectiv 2;

Q_{e1} ; Q_{e2} – procentele evenimentelor nefavorabile;

$n_1; n_2$ – efectivul celor două eșantioane.

În cazul estimării diferenței între două procente (P_{e1} și P_{e2}) este valabilă regula:

$D < 2\sigma_D$ - nesemnificativ;

$D > 2\sigma_D$ - semnificativ.

iar pentru o precizie mai mare:

$D < 3\sigma_D$ - nesemnificativ;

$D > 3\sigma_D$ - semnificativ,

în care: D (sau $P_{e1} - P_{e2}$) – diferența între procente: $2\sigma_D$; $3\sigma_D$ – dublul, respectiv triplul erorii diferenței, între cele două procente.

În cazul comparării a două valori procentuale cu ajutorul criteriului „t” avem:

$$t_{\text{calc.}} = \frac{D}{\sigma_D}, \text{ iar } t_{\text{tab.}}(0,05) = 1,96$$

În cazul când $t_{\text{calc.}}$ este mai mic decât $t_{\text{tab.}}$ (la un interval de siguranță statistică de 95%) diferența dintre cele două procente este nesemnificativă. Și invers, când $t_{\text{calc.}}$ este mai mare decât $t_{\text{tab.}}$ diferența dintre cele două procente se consideră semnificativă.

3. REZULTATELE STUDIULUI ANTIBIOTICOREZISTENȚEI MICROBIENE ÎN BAZA PROGRAMULUI COMPUTERIZAT WHONET

3.1. Implementarea programului computerizat WHONET în monitoringul antibioticorezistenței 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 IMSP IMU – instituție medico-sanitară multiprofil, a fost nevoie de a configura programul WHONET. În acest aspect a fost structurată fereastra de start a programului care oferă acces către meniurile de configurare (figura 3.1).

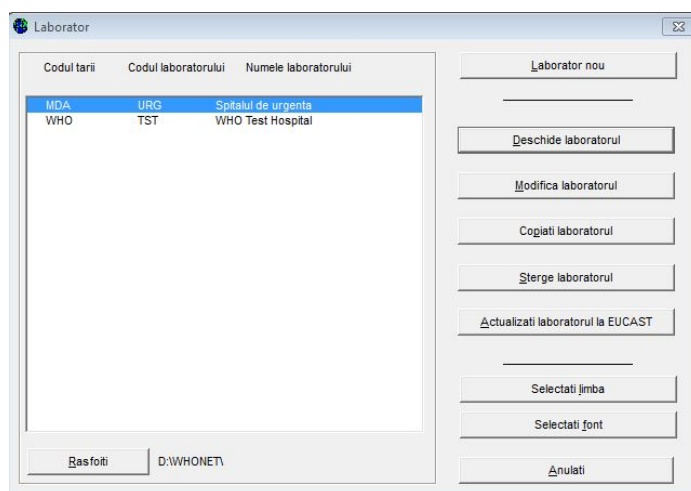


Fig. 3.1. Fereastra de start a programului, cu acces către meniurile de configurare.

Au fost selectate antibioticele utilizate în determinarea sensibilității/rezistenței tulpinilor izolate, standardul (CLSI, EUCAST) și metoda de efectuare a antibiogramei de către laboratorul microbiologic, secțiile și departamentele spitalului incluse în meniu (figura 3.2).

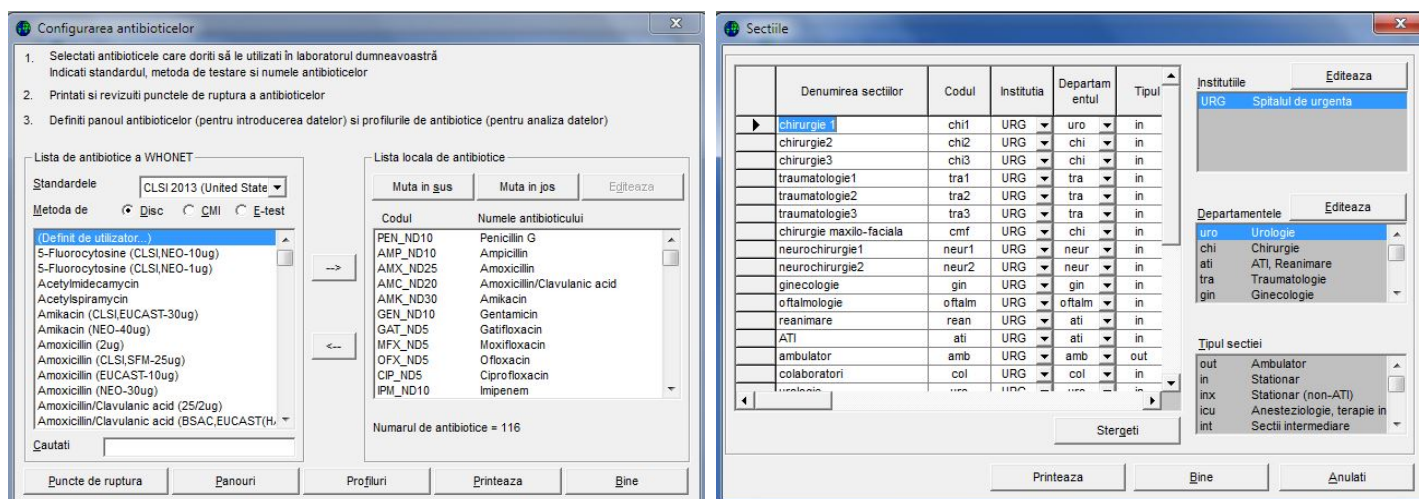


Fig. 3.2. Meniul de monitorizare a sensibilității/rezistenței agenților cauzali ai ISP

Pentru a introduce rezultatele investigațiilor microbiologice în programul de monitorizare, a fost creat un fișier care include datele personale ale pacienților: numărul fișei de observație, numele, prenumele, data nașterii, vârsta, diagnosticul; date privind secția și departamentul în care au fost internați; date cu privire la proba recepționată: numărul analizei, data efectuării analizei, tipul materialului patologic; date cu privire la microorganismele izolate: specia, colorația Gram, prezența/absența unor enzime de rezistență (ESBL, beta-lactamaze, MRSA, VRE, inducibile clindamicin, carbapenemase, ș.a.); datele testării la antibiotice a tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienți, conform metodei aplicate: disc-difuzimetrică, MIC (concentrația minimă inhibitoare), E-test (figura 3.3).

Originea Uman

Originea

Numarul de identificare Răspunsul la tratament

Nume Tratament cu antibiotice

Prenume Data internării

Gen Data externării

Data nașterii Data operației

Vârsta Operația

Categoria de vârstă Evoluția clinică

Diagnosticul Medicul

Terapia anterioară cu Chirurgical

Secția

Secția Tipul secției

Instituația Data internării în secție

Departamentul

Proba

Numărul probei Materialul patologic

Data probei Scopul

Microbiologie

Microorganismul Enterococcus faecalis

Tipul microorganismului ESBL

Panoul cu antibiotice

☒ Disc ☐ CMI ☐ E-test

PEN	6	R	AMP	6	R	AMX	23	S	AMC	26	S
AMK			GEN			GAT			MXF		
OFX			CIP	6	R	IPM			OXA		
ERY			CLI			AZM	6	R	LIN	6	R
OLE			LEX	6	R	CZO			CTX		
MAN			CRO			CAZ			CXM	6	R
CFP			CEP			CEC			FEP		
CFM			TOB			NET			CLR	6	R
PEF			CHL	6	R	ATM			NOR		
MEM			NIT			NIZ			FRZ		
NTR			PPA			NAL			FUS		
LVX			TMP			DOX			LNZ		
NYS			CTR			FLU			KET		
ITR			VAN	12	R	MCZ			TIC		
FOS			RIF								

Salvati izolatul

Vizualizati baza de date

BacTrack sumar

Printeaza

Iesire

Caliper **Curatati**

Rapoarte clinice

<F8> Include sau exclude un antibiotic

<F9> Include toate antibioticele testate

Penicillin G_CLSI_Disk_10units

PEN_ND10

Maximum: 2 caractere

Penicillin G

CLSI

10units

S >= 15

Alerte

WHONET-16 Prioritate medie

Enterococcus faecalis

Penicillins = Ne-sensibile

Alerta de control a calitatii - Tulpinile rezistente sunt rare

Non-susceptible isolates are rare.

WHONET-26 Prioritate medie

Enterococcus sp.

Vancomycin-resistant Enterococcus

Rezistenta importanta

Alerta de control a calitatii

Depending on your area, resistant isolates may be uncommon.

Fig. 3.3 Fereastra principală a programului de monitorizare

După introducerea datelor personale a pacienților și a tulpinilor testate, există 3 opțiuni privind salvarea datelor (figura 3.4):

- salvarea izolatului;
- salvarea izolatului și continuarea cu aceeași probă;
- salvarea izolatului și continuarea cu același pacient.

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. (figura 3.4).

Salvati izolatul

Doriti sa salvati izolatul?

☒ Salvati izolatul

☐ Salvati izolatul si continuati cu aceeaasi proba

☐ Salvati izolatul si continuati cu acelasi pacient

Bine

Anulati

Alerte

☐ Alerta de control a calitatii

☐ Specie importanta

☒ Rezistenta importanta

☒ Salvati izolatul

☒ Trimiteti catre un laborator de referinta

☒ Alerta de control a calitatii

☐ Comentariul terapiei

☐ Alte alerte

Toate antibioticele = Ne-sensibile
The isolate is resistant to all tested antibiotics. You may wish to send the isolate to

Fig. 3.4. Salvarea izolatului cu sumarul alertelor microbiologice pentru acest izolat.

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 (figura 3.5).

Introducerea datelor: D:\WHONET\Data\Analyze2014.urg											
Editeaza izolatul		Editeaza tabel	Sterge	Gaseste	Inlocuieste	Printeaza	Continua				
	Numarul de identificare	Microorganismul	AMX_ND25	AMC_ND20	AMK_ND30	GEN_ND10	GAT_ND5	MXF_ND5	OFX_ND5	CIP_ND5	
▶	15	kpn		6	20	6				6	
	12	spy	28	31							
	37	eco		6	18	6				6	
	8	pmi		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. 3.5. 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. Analiza poate fi efectuată în dependență de mai multe criterii (figura 3.6):

- 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;

Rezultatele analizei												
Fisier Editeaza Date												
Copie tabelul	Copie figura	Printeaza tabelul	Printeaza figura	Continua	Microorganism = Toate microorganismele (n=1946 Tulpini)							
Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3 Exclude					☐ Arata coloanele ascunse							
	Codul	Microorganism	Numarul de tulpini	(%)	Numarul de pacienti	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	
▶	aba	Acinetobacter baumannii	8	(0)	8							
	ac-	Acinetobacter sp.	155	(8)	153	29	13	19	13	14	2	
	afa	Alcaligenes faecalis (odorans)	1	(0)	1	1						
	bmg	Bacillus megaterium	2	(0)	2							
	bcs	Bacillus sp.	1	(0)	1							
	bsh	Bacillus sphaericus	4	(0)	4		1	1		1		
	cal	Candida albicans	28	(1)	28	3	3		4	1		
	cgl	Candida glabrata	3	(0)	3			1	1			
	cps	Candida kefyr (pseudotropicalis)	1	(0)	1							
	ckr	Candida krusei	5	(0)	5			1				
	ctr	Candida tropicalis	4	(0)	4			1	1	2		
	cbk	Citrobacter braakii	2	(0)	2				1	1		
	cfr	Citrobacter freundii	9	(0)	9	1		3		1		
	cdi	Citrobacter koseri (diversus)	2	(0)	2							

Fig. 3.6 Lista microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din instituție.

Lista pacienților și a microorganismelor izolate și testate la antibiotice se afișează sub formă de tabel (figura 3.7.a), care poate fi printată (figura 3.7.b) sau exportată în alte programe, ex: Microsoft Office Excel și Access, format text și altele. Acesta oferă posibilitatea de a utiliza datele obținute în alte programe, cu scopul de a efectua o analiză mai detaliată sau a face schimb de date cu alte laboratoare, centre de monitorizare a antibioticorezistenței.

Rezultatele analizei												
Fisier		Editeaza		Date								
Copie tabelul	Copie figura	Printeaza tabelul	Printeaza figura	Continua	Microorganism = Toate microorganismele (n=1946 Tulpini)							
Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3 Exclude					☐ Arata coloanele ascunse							
Numarul de identificare	Sectia	Data probei	Materialul patologic	Microorganismul	Tipul microorganismului	PEN	AMP	AMX	AMC	AMK	GEN	
1122	ati	23.03.2013	sp	ac-	-					R	R	
1136	rean	22.03.2013	ta	ac-	-					R	R	
1139	rean	23.03.2013	bl	ac-	-					R	R	
114	rean	11.01.2013	ta	ac-	-					R	R	
116	rean	11.01.2013	ta	ac-	-					R	R	
1192	rean	27.03.2013	ps	ac-	-			R		R	R	
1225	rean	30.03.2013	ta	ac-	-					I	R	
1254	rean	01.04.2013	ta	ac-	-					I	R	
126	chi3	09.01.2013	ps	ac-	-				R	R	R	
1269	chi3	02.04.2013	ps	ac-	-					S	R	
1352	rean	10.04.2013	sp	ac-	-					R	R	
1412	tra3	13.04.2013	ps	ac-	-					R	R	
1450	rean	19.04.2013	bl	ac-	-					R	R	
1516	rean	20.04.2013	ur	ac-	-					R	R	
1517	rean	22.04.2013	cc	ac-	-			R		R	R	
1521	chi3	22.04.2013	ps	ac-	-			R		R	R	
1528	ati	22.04.2013	ta	ac-	-			R		R	R	
1545	rean	24.04.2013	ps	ac-	-					R	R	
1549	rean	24.04.2013	ta	ac-	-					R	R	

Fig. 3.7.a. Lista pacienților și a microorganismelor izolate și testate la antibiotice (afișată pe ecran)

Organism = Gram positive organisms						13-iun-2014 12:30												
Data files = analize_2013.urg																		
Use expert interpretation rules																		
Location = amb, sato, sato1, sato2, sato3 (Exclude)																		
Number of isolates = 910																		
Isolate listing																		
Identification number	Organism	Country	Location	Specimen date	Specimen type	Organism type	PEN	AMP	AMX	AMC	AMK	GEN	GAT	MFx	OFx	CIP	IPM	OXA
1099	bal	MDA	tra3	21.03.13	ps	+				R		S						
2207	bal	MDA	chi2	11.06.13		+						S				S		
2403	bal	MDA	chi3	22.06.13		+				R		S						
2442	bal	MDA	tra3	09.07.13		+				S		S						
2900	bal	MDA	chi3	17.07.13		+				S		S						
3293	bal	MDA	ati	03.08.13		+				R		R						
3916	bal	MDA	chi3	09.09.13		+				S		S						
653	bal	MDA	rean	21.02.13	ps	+				S		S						
3242	bcs	MDA	tra3	01.08.13		+				R		S						
3324	bmg	MDA	chi3	03.08.13		+				S		S						

Fig. 3.7.b Lista pacienților și a microorganismelor izolate și testate la antibiotice (imprimată)

Analiza poate fi efectuată în scopul vizualizării procentajului microorganismelor rezistente/ intermediare/sensibile la antibiotice. E posibil de a vizualiza analiza pentru un singur tip de microorganism, dintr-o anumită secție, anumit material patologic sau un anumit grup de microorganisme (grampozitive, gramnegative, fungi) sau toate microorganismele împreună. Analiza 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 (figura 3.7).

Rezultatele analizei

Fisier Editeaza Date

Copie tabelul

Copie figura

Printeaza tabelul

Printeaza figura

Continua

Microorganism = Toate microorganismele (n=1946 Tulpini)

☐ Arata coloanele ascunse

Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3 Exclude

	Codul	Numele antibioticului	Puncte de ruptura	Numarul	%R	%I	%S	%NS	%R 95 C.I.	Numarul	6	7	8	9	10	11	12	13	14
►	PEN_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	61	80,3	4,9	14,8		67.7-89.0	61	62,3		8,2		3,3				1,6
	AMX_ND25	Amoxicilin	14 - 17	570	42,1	3,2	54,7		38.0-46.3	570	38,9		1,8		0,2		0,7		0,7
	AZL_ND75	Azlocilin	S >= 18	1	100	0	0		5.5-100	1	100								
	TIC_ND75	Ticarcilin		190	77,4	3,2	19,5		70.7-83.0	190	72,1		2,6		0,5		1,1		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/Clavulanic 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
	CFP_ND75	Cefoperazone	16 - 20	200	74	3	23		67.2-79.8	200	70,5		2				0,5		
	CXM_ND30	Cefuroxime	15 - 17	365	32,3	0,3	67,4		27.6-37.4	365	16,4		1,6						0,5
	MAN_ND30	Cefamandole	15 - 17	3	33,3	0	66,7		1.8-87.5	3									
	CAZ_ND30	Ceftazidime	18 - 20	859	54	9,5	36,4		50.6-57.4	859	43,8		4,4		0,8		0,8	0,7	0,3
	CRO_ND30	Ceftriaxone	25 - 26	537	64,2	3,5	32,2		60.0-68.2	537	56,8		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
	FEP_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	Cefoxitin	15 - 17	10	20	0	80		3.5-55.8	10	20								
	CEC_ND30	Cefaclor	15 - 17	316	63,3	6,6	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	0,3		2,3	0,3	0,5
	LEX_ND30	Cephalexin	15 - 17	718	32,2	1,1	66,7		28.8-35.8	718	16,3		2,9		0,3		1,1		0,6
	ATM_ND30	Aztreonam	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. 3.8. Ponderea probelor rezistente, intermediare și sensibile a antibioticelor la care au fost testate microorganismele izolate de la pacienții cu ISP

Datele din program privind rezistența/sensibilitatea la antibiotice sunt reprezentate și grafic, sub formă de histograme. Programul reprezintă datele în 2 tipuri de histograme:

- histograme cu distribuția diametrelor zonelor de inhibiție;
- totalul rezistenței/sensibilității.

De exemplu, în figura 3.9.a este reprezentată distribuția zonelor de inhibiție pentru cefalexină. Liniile verticale roșii reprezintă criteriile de interpretare a rezultatelor. Pentru metoda disc-difuzimetrică, microorganismele sensibile vor fi la dreapta de linia roșie, rezistente la stânga și intermediare între cele 2 linii roșii (figura 3.9.a); pentru metoda concentrației minime inhibitoare, microorganismele sensibile vor fi la stânga și cele rezistente la dreapta (figura 3.9.b).

Pentru majoritatea microorganismelor, reprezentarea grafică trebuie să fie o distribuție normală Gaussiană. Devierile de la normă sunt specifice pentru unele microorganisme și antibiotice, însă pot reprezenta și o eroare de laborator – calitatea proastă a reactivelor (discurile ori mediul de cultură), a preparării inoculului sau a rezultatelor măsurării.

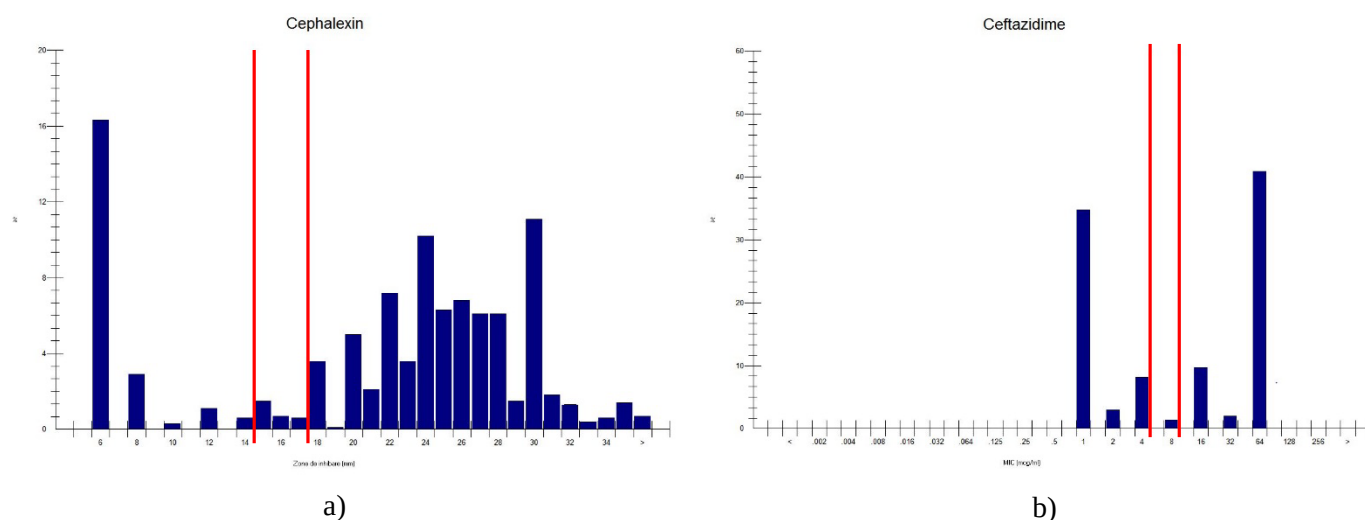


Fig. 3.9. Histogramele distribuției diametrelor zonelor de inhibiție pentru a) metoda disc-difuzimetrică și b) metoda concentrației minime inhibitoare.

Reprezentarea grafică a distribuției diametrelor zonelor de inhibiție pentru cefalexină sugerează câteva subpopulații de microorganisme: 1. un grup cu o rezistență înaltă față de cefalexină (diametrul zonei ≤ 6 mm = nici o inhibiție); 2. un grup cu rezistență mică (diametrul zonelor de 8, 10, 12 și 14 mm); 3. un grup cu sensibilitate intermediară (diametrul zonelor e cuprins între 15-17 mm); 4. un alt grup cu sensibilitate normală față de cefalexină, care putem presupune a fi tipul sălbatic; 5. un grup cu sensibilitate sporită (diametrul zonelor > 33 mm). Din această reprezentare grafică putem presupune că se întâlnesc microorganisme cu diferite mecanisme de rezistență (grupul 1, 2 și 3). Aceste reprezentări grafice pot fi de folos pentru cercetările moleculare, dar și aplicate în scopuri epidemiologice pentru caracteristica erupțiilor asociate cu anumite tulpini.

Programul WHONET poate fi utilizat și pentru calcularea antibioticorezistenței/sensibilității microbiene și pentru grupele de antibiotice. Acest tip de analiză a fost efectuat pentru fiecare specie de microorganisme, dar și pentru anumite grupe de microorganisme, secții și pentru a evalua situația epidemiologică la nivel de staționar. În figura 3.10 sunt afișate datele cu privire la antibioticorezistență/sensibilitatea tuturor microorganismelor izolate din staționar. În prima coloană avem codul antibioticului, apoi în următoarele coloane antibioticele la care au fost testate microorganismele, clasa antibioticelor și subclasa lor, iar în următoarele numărul de probe pentru fiecare antibiotic testat, apoi proporția sau numărul probelor rezistente, intermediare și sensibile.

Rezultatele analizei												
Fisier Editeaza Date												
Copie tabelul		Copie figura		Printeaza tabelul		Printeaza figura		jura	Continua		1 a	Continua
Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3 Exclude												
	Codul	Numele antibioticului	Clasa antibioticelor	Subclasa antibioticelor	Numarul	%R	%I	%S	R	I	S	
►	PEN_ND10	Penicilin G	Penicillins	Penicillins	317	43,2	5,7	51,1	137	18	162	
	AMP_ND10	Ampicillin	Penicillins	Aminopenicillins	61	80,3	4,9	14,8	49	3	9	
	AMX_ND25	Amoxicillin	Penicillins	Aminopenicillins	570	42,1	3,2	54,7	240	18	312	
	AZL_ND75	Azlocillin	Penicillins	Ureidopenicillins	1	100	0	0	1	0	0	
	TIC_ND75	Ticarcillin	Penicillins	Carboxypenicillins	190	77,4	3,2	19,5	147	6	37	
	OXA_ND1	Oxacillin	Penicillins	Penicillins (Stable)	553	36,7	0,9	62,4	203	5	345	
	AMC_ND20	Amoxicillin/Clavulanic acid	Beta-lactam+Inhibiti		469	24,9	2,8	72,3	117	13	339	
	CZO_ND30	Cefazolin	Cephems	Cephalosporin I	882	50,6	5,8	43,7	446	51	385	
	CFP_ND75	Cefoperazone	Cephems	Cephalosporin II	200	74	3	23	148	6	46	
	CXM_ND30	Cefuroxime	Cephems	Cephalosporin II	365	32,3	0,3	67,4	118	1	246	
	MAN_ND30	Cefamandole	Cephems	Cephalosporin II	3	33,3	0	66,7	1	0	2	
	CAZ_ND30	Ceftazidime	Cephems	Cephalosporin III	859	54	9,5	36,4	464	82	313	
	CRO_ND30	Ceftriaxone	Cephems	Cephalosporin III	537	64,2	3,5	32,2	345	19	173	
	CTX_ND30	Cefotaxime	Cephems	Cephalosporin III	468	55,1	10,7	34,2	258	50	160	
	FEP_ND30	Cefepime	Cephems	Cephalosporin IV	517	47	3,3	47,2	243	17	244	

Fig. 3.10. Numărul și proporția probelor rezistente, intermediare, sensibile și clasele, subclasele antibioticelor la care au fost testate microorganismele izolate de la pacienții cu ISP

Studierea profilului de rezistență a microorganismelor are ca scop identificarea microorganismelor cu același fenotip de rezistență, lucru care ușurează identificarea originii unei erupții provocate de microorganismele rezistente la antibiotice.

Rezultatele analizei

Fisier Editeaza Date

Copie tabelul

Copie figura

Printeaza tabelul

Printeaza figura

Continua

Microorganism = Klebsiella pneumoniae ss. pneumoniae (n=119 Tulpini)
☐ Arata coloanele ascunse

Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3Exclude

A = AMX 14 - 17
G = GAT 15 - 17
C = CZO 20 - 22
T = CTX 23 - 25

!!!

	Numarul de identificare	Sectia	Data probei	Materialul patologic	Microorg anism	Tipul microorga	Profil	Profilul de rezistenta	AMX	GAT	CZO	CTX	CAZ	CFP	NET	PEF	NIT	FRZ	NTR	PPA	DOX
	244	chi3	16.01.2013	ps	kpn	-	---	---			24	30	25								17
	5456	gin	04.12.2013		kpn	-	---	---			24		25			28					18
	5572	gin	10.12.2013		kpn	-	---	---			23		26			26					18
	1315	rean	05.04.2013	ta	kpn	-	---	---				30	28			24					
	818	rean	02.03.2013	ur	kpn	-	---	---				28	28								20
	189	rean	14.01.2013	ta	kpn	-	---	---					28								17
	3553	rean	15.08.2013		kpn	-	A- - - - -	AMX - - - - -	6		25		24			25					20
	5291	gin	25.11.2013		kpn	-	- - - Z - - -	- - - CAZ - - -			25		18			27					21
	884	ati	05.03.2013	ta	kpn	-	- - - T - - -	- - - CTX - - -				8	22			24					18
	5420	chi3	03.12.2013		kpn	-	- - C - - - -	- - - CZO - - -			8		27	29							18
	5486	bvcv	05.12.2013		kpn	-	- - C - - - -	- - - CZO - - -			6		23	21							15
	5303	chi3	26.11.2013		kpn	-	- - C - - - -	- - - CZO - - -			6		28				35				16
	1260	rean	02.04.2013	ur	kpn	-	---	---				26	24			14					
	5695	uro	18.12.2013		kpn	-	---	---										17		7	22
	1437	chi3	16.04.2013	ps	kpn	-	---	---								6					
	632	tras	16.02.2013	ps	kpn	-	---	---								6					
	671	chi3	21.02.2013	ps	kpn	-	---	---								13					
	3567	uro	16.08.2013		kpn	-	---	---					6								
	15	chi2	02.01.2013	ps	kpn	-	---	---		18	6	23	22	27							

Fig. 3.11. Profilurile de rezistență a tulpinilor de Klebsiella pneumoniae izolate de la pacienții cu ISP.

În figura 3.11 este reprezentat un exemplu a profilurilor de rezistență a tulpinilor de *K. pneumoniae*. Primele coloane conțin informații cu privire la numărul fișei medicale, secția, data efectuării analizei, tipul materialului patologic, microorganismul și tipul microorganismului. Următoarele coloane „Profile” (codul antibioticului e format doar dintr-o literă) și „Resistance profile” (codul antibioticului e format din 3 litere) indică la care antibiotice tulpinile date au fost rezistente. De exemplu: „CT”= „CZO CTX” indică cefazolina și cefotaximul. Tulpinile sensibile la toate antibioticele sunt afișate primele, în partea de sus a tabelului, iar cele polirezistente în partea de jos a tabelului. Dacă de la un pacient sunt izolate mai multe tulpini, prin analiza profilului de rezistență se poate deduce dacă e aceeași tulpină izolată în zile diferite sau sunt 2 tulpini diferite. Pe baza profilului de rezistență, a datei și a secțiilor/secției în care se întâlnesc tulpini de microorganisme cu același profil de rezistență, atunci putem presupune că este o erupție provocată de aceeași tulpină.

În figura 3.12 sunt afișate toate profilurile de rezistență întâlnite la microorganismele de *K. pneumoniae* izolate de la pacienții cu ISP din staționar. Primele 2 coloane conțin informații despre profilul de rezistență, apoi numărul de tulpini caracteristice fiecărui profil de rezistență și ponderea lor din totalul de tulpini, numărul de pacienți cu un anumit profil de rezistență și ponderea lor din totalul de pacienți și repartizarea lor pe lunile anului.

Rezultatele analizei

Fisier Editeaza Date

Copie tabel

Copie figura

Printeaza tabel

Printeaza figura

Continua

Microorganism = Klebsiella pneumoniae ss. pneumoniae (n=119 Tulpini)

☐ Arata coloanele ascunse

Sectia: amb, sato, sato1, sato2, sato3 Exclude

A = AMX 14 - 17

G = GAT 15 - 17

C = CZO 20 - 22

T = CTX 23 - 25

III

	Org	Profil	Profilul de rezistenta	Numarul de tulpini	%Tulpini	Numarul de pacienti	%Pacienti	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
▶	tpn	---	---	1	0	1	0	1											
		---	---	2	1	2	1												
		---	---	1	0	1	0				1								
		---	---	1	0	1	0			1									
		---	---	1	0	1	0	1											
		A- ---	AMX ---	1	0	1	0								1				
		-Z- ---	CAZ ---	1	0	1	0											1	
		-T- ---	CTX ---	1	0	1	0			1									
		-C- ---	CZO ---	2	1	2	1												
		-C- ---	CZO ---	1	0	1	0											1	
		-P- ---	PEF ---	1	0	1	0				1								
		-X- ---	---	1	0	1	0												
		-N- ---	NET ---	3	2	3	2		2		1								
		-Z- ---	CAZ ---	1	0	1	0								1				

Fig. 3.12. Sumarul profilurilor de rezistență a tulpinilor de *K. pneumoniae* izolate de la pacienții cu ISP din 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.

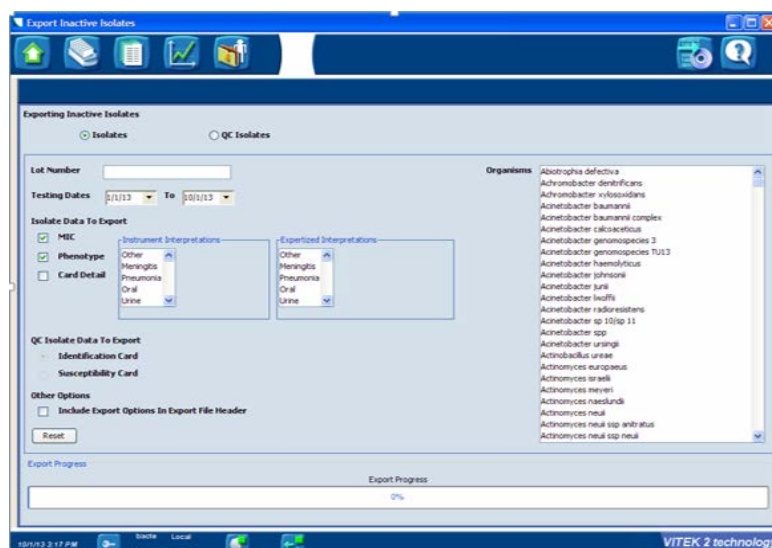


Fig. 3.13 Fereastra principală a analizatorului microbiologic automat VITEK 2 Compact.

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 (figura 3.13, 3.14).

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 (figura 3.15)

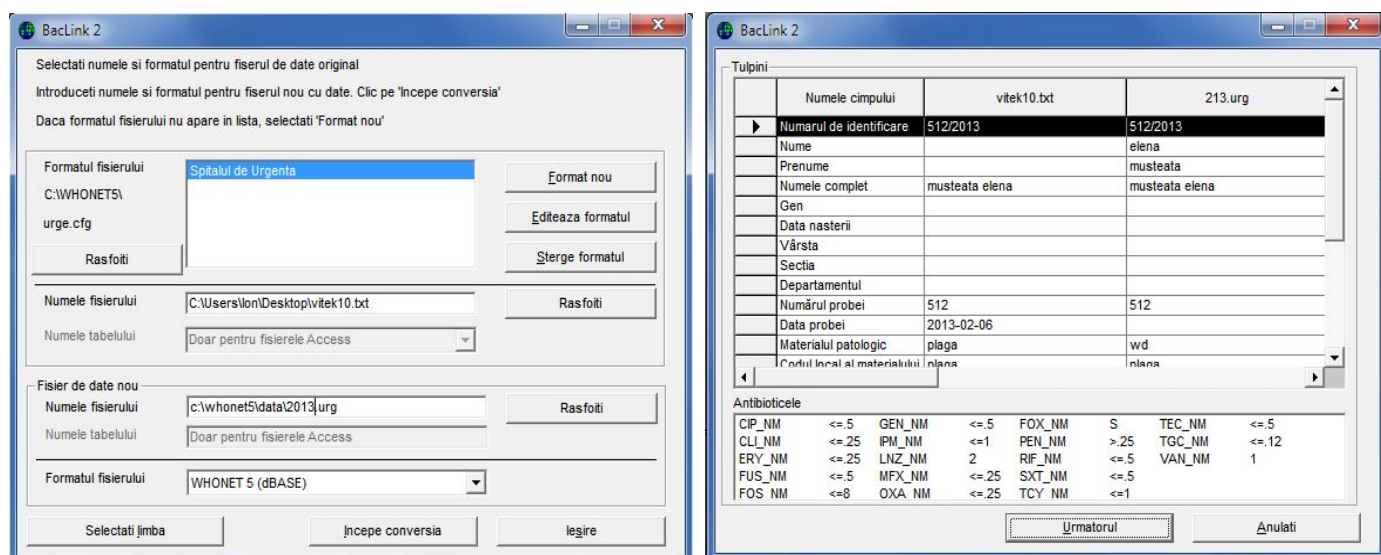


Fig. 3.14. Fereastra BackLink și conversia datelor cu formarea bazei de date.

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 (figura 3.15).

Rezultatele analizei

Fisier Editeaza Date

Copie tabelul

Copie figura

Printeaza tabelul

Printeaza figura

Continua

Microorganism = Toate microorganismele
☐ Arata coloanele ascunse

Sectia: sato, sato1, sato2, sato3, amb Exclude

	Codul	Numele antibioticului	Laborator	Numele fisierului	Puncte de ruptura	Numarul	%R	%I	%S	%NS	%R 95 C.I.
►	AMC_ND20	Amoxicillin/Clavulanic acid	URG	analize_2013.urg	14 - 17	469	24,9	2,8	72,3		21.1-29.1
	AMC_NM	Amoxicillin/Clavulanic acid	URG	vitek4.urg	S<=8 R>=32	11	81,8	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_NM	Amikacin	URG	vitek4.urg	S<=16 R>=64	616	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_NM	Ampicilin	URG	vitek4.urg	S<=8 R>=32	642	79,4	2	18,4	0,2	76.2-82.6
	AMX_ND25	Amoxicillin	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_NM	Aztreonam	URG	vitek4.urg	S<=4 R>=16	4	50	0	50		9.2-90.8
	AZL_ND75	Azlocillin	URG	analize_2013.urg	S >= 18	1	100	0	0		5.5-100
	AZM_ND15	Azithromycin	URG	analize_2013.urg	14 - 17	825	36,6	2,5	60,8		33.3-40.0
	CAZ_ND30	Ceftazidime	URG	analize_2013.urg	18 - 20	859	54	9,5	36,4		50.6-57.4
	CAZ_NM	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	Cefixime	URG	analize_2013.urg	16 - 18	661	72,3	5,4	22,2		68.7-75.6
	CFP_ND75	Cefoperazone	URG	analize_2013.urg	16 - 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. 3.15. Analiza combinată a datelor obținute cu ajutorul a 2 metode (disc-difuzimetrică și analizatorul VITEK 2 Compact).

Spre deosebire de tabele cu datele analizate obținute la analiza 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 (figura 3.16).

Rezultatele analizei

Fisier Editeaza Date

Copie tabelul

Copie figura

Printeaza tabelul

Printeaza figura

Continua

Microorganism = Toate microorganismele

☐ Arata coloanele ascunse

Sectia: sato, sato1, sato2, sato3, amb Exclude

	Codul	Numele antibioticului	Laborator	Numele fisierului	Puncte de ruptura	Numarul	%R	%R?	%I	%S	%R 95 C.I.
▶	AMC_ND20	Amoxicillin/Clavulanic acid	URG	analize_2013.urg	14 - 17	469	24,9		2,8	72,3	21.1-29.1
	AMC_NM	Amoxicillin/Clavulanic acid	URG	vitek4.urg	S<=8 R>=32	11	81,8		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_NM	Amikacin	URG	vitek4.urg	S<=16 R>=64	616	13,3		3,9	82,5	10.8-16.3
	AMP_ND10	Ampicillin	URG	analize_2013.urg	19 - 25	61	80,3		4,9	14,8	67.7-89.0
	AMP_NM	Ampicillin	URG	vitek4.urg	S<=8 R>=32	642	79,4		2	18,4	76.2-82.6
	AMX_ND25	Amoxicillin	URG	analize_2013.urg	14 - 17	570	42,1		3,2	54,7	38.0-46.3
		Amoxicillin	URG	w10mda.urg	14 - 17	922	58,4		3,6	38,1	55.1-61.6
	ATM_ND30	Aztreonam	URG	analize_2013.urg	18 - 20	204	67,2		12,3	20,6	60.2-73.5
	ATM_NM	Aztreonam	URG	vitek4.urg	S<=4 R>=16	4	50		0	50	9.2-90.8
	AZL_ND75	Azlocillin	URG	analize_2013.urg	S >= 18	1	100		0	0	5.5-100
	AZM_ND15	Azithromycin	URG	analize_2013.urg	14 - 17	825	36,6		2,5	60,8	33.3-40.0
	CAZ_ND30	Ceftazidime	URG	analize_2013.urg	18 - 20	859	54		9,5	36,4	50.6-57.4
		Ceftazidime	URG	w10mda.urg	18 - 20	592	88,5		3,5	7,9	85.6-90.9
	CAZ_NM	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	Cefixime	URG	analize_2013.urg	16 - 18	661	72,3		5,4	22,2	68.7-75.6
	CFP_ND75	Cefoperazone	URG	analize_2013.urg	16 - 20	200	74		3	23	67.2-79.8
		Cefoperazone	URG	w10mda.urg	16 - 20	955	85,4		9,2	5,3	83.0-87.5

Fig. 3.16. Analiza comparativă a datelor obținute cu ajutorul a diferite metode (disc-difuzimetrică și VITEK 2 Compact) și în ani diferiți (2010 și 2013).

De exemplu, în figura 3.16 primele 2 coloane includ codul și numele antibioticului, apoi codul laboratorului, denumirile fișierelor, criteriile de interpretare a rezultatelor, numărul de probe și ponderea probelor rezistente, intermediare și sensibile. Astfel, poate fi efectuată rapid o evaluare comparativă a evoluției antibioticorezistenței microbiene în dinamica multianuală, atât după datele absolute (numărul de probe), ponderea probelor rezistente, intermediare, sensibile, cât și pe baza comparării intervalelor de încredere (%R 95%C.I.).

Așadar, implementarea în cadrul laboratorului microbiologic al programului computerizat WHONET a permis de a crea baza de date cu privire la microorganismele identificate, rezistența/sensibilitatea lor la antibiotice, cu analiza lor ulterioară privind microorganismele izolate și nivelul lor de rezistență / sensibilitate la antibiotice. Cu ajutorul funcției BacLink integrată în programul WHONET a fost posibilă importarea și conversia datelor privind microorganismele izolate și nivelul lor de rezistență / sensibilitate la antibiotice, rezultate din analizatorul microbiologic automatizat VITEK 2 Compact.

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

În rezultatul studiului efectuat în 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 polietilogic pronunțat al acestei patologii. Predomină microorganismele gram-pozitive, 2237 tulpini sau 56,78% din totalul de tulpini decelate. La microorganismele gram-negative aparțin 1624 tulpini sau 41,22%, iar 79 tulpini, ce constituie 2,01% din totalul de tulpini izolate, aparțin la fungi. (tabelul 3.1, figura 3.17).

Din grupul microorganismelor grampozitive predomină *S. epidermidis* – 37,77%, *S. aureus* – 30,00%, *E. faecalis* – 18,28% și *S. pyogenes* – 5,41%. O pondere mai mică din totalul de microorganisme grampozitive constituie *S. mutans* – 3,84%, *S. viridans* – 2,46% și *E. faecium* – 0,63%. Din alte microorganisme grampozitive izolate de la pacienții cu ISP (1,61%) fac parte *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *B. cereus*, *B. firmus*, *B. laterosporus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *C. pseudodiphthericum*, *C. pseudotuberculosis*, *B. alvei*. (tabelul 3.1, figura 3.17).

Din microorganismele gramnegative (26 specii) predomină *E. coli* – 27,03%, *P. aeruginosa* – 15,70%, *K. pneumoniae* – 13,00%, microorganismele din genul *Proteus* – 10,90%, *Acinetobacter* sp. – 7,45%, *E. cloacae* (6,47%), *E. aerogenes* – 6,16%. O pondere mai mică, de la 0,74% până la 2,34% din grupul de microorganisme gramnegative, constituie *C. freundii*, *C. diversus*, *K. oxytoca*, *M. morganii*, *N. perflava*, *S. marcescens*, *P. alcalifaciens*.

Tabelul 3.1 Structura etiologică și antibioticosensibilitatea / rezistența microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP

Microorganismele (specia)	Nr. tulpini decelate	% din grup	% din totalul de tulpini	Nr testări la antibiotice	inclusiv nr. probe			
					sensibile		rezistente	
					abs.	%	abs.	% (95% C.I.)
Microorganisme gram-pozitive								
S. aureus	671	30,00	17,03	4132	2824	68,34	1308	31,66 (30,2-33,1)
S. epidermidis	845	37,77	21,45	5191	2910	56,06	2281	43,94 (42,6-45,3)
S. mutans	86	3,84	2,18	524	375	71,56	149	28,44 (24,6-32,5)
S. pyogenes	121	5,41	3,07	732	581	79,40	151	20,60 (17,8-23,7)
S. viridans	55	2,46	1,40	332	237	71,40	95	28,60 (23,8-33,8)
E. faecalis	409	18,28	10,38	2241	922	41,14	1319	58,86 (56,8-61,0)
E. faecium	14	0,63	0,36	80	58	72,50	22	27,50 (18,1-38,6)
Alte microorg.	36	1,61	0,91	234	139	59,40	95	40,60 (34,3-47,2)
Total microorg. Gram+	2237	100	56,78	13466	8046	59,75	5420	40,25 (39,4-41,1)
Microorganisme gram-negative								
Acinetobacter sp.	121	7,45	3,07	1295	170	13,13	1125	86,87 (85,0-88,7)
E. coli	439	27,03	11,14	4131	2063	49,90	2068	50,10 (48,5-51,6)
E. aerogenes	100	6,16	2,54	810	259	32,00	551	68,00 (64,7-71,2)
E. cloacae	105	6,47	2,66	815	331	40,60	484	59,40 (56,0-62,8)
K. oxytoca	30	1,85	0,76	269	109	40,50	160	59,50 (53,3-65,4)
K. pneumoniae	211	13,00	5,36	1951	520	26,65	1431	73,35 (71,3-75,3)
P. aeruginosa	255	15,70	6,47	1985	805	40,55	1180	59,45 (57,2-61,6)
C. freundii	55	3,39	1,40	435	223	51,26	212	48,74 (44,0-53,5)
C. diversus	10	0,62	0,25	96	51	53,12	45	46,88 (36,6-57,3)
M. morganii	38	2,34	0,96	299	160	53,50	139	46,50 (40,7-52,3)
P. mirabilis	89	5,48	2,26	855	302	35,32	553	64,68 (61,4-67,8)
P. rettgeri	44	2,71	1,12	398	66	16,60	332	83,40 (79,4-87,0)
P. vulgaris	44	2,71	1,12	385	195	50,65	190	49,35 (44,2-54,4)
N. perflava	20	1,23	0,51	91	49	53,85	42	46,15(35,6-56,9)
P. alcalifaciens	12	0,74	0,30	116	8	6,9	108	93,10 (86,8-96,9)
S. marcescens	34	2,09	0,86	257	108	42,00	149	58,00 (51,6-64,1)
Alte microorg.	17	1,05	0,43	98	59	60,20	39	39,80 (30,0-50,2)
Total microorg. Gram-	1624	100,00	41,22	14286	5478	38,34	8808	61,66 (60,8-62,5)
Fungi								
C. albicans	63	79,75	1,60	326	113	34,66	213	65,33 (60,0-70,5)
C. krusei	12	15,19	0,30	65	31	47,7	34	52,30 (39,5-64,9)
Alte specii	4	5,06	0,10	21	7	33,30	14	66,70 (43,0-85,4)
Total fungi	79	100,00	2,01	412	151	36,65	261	63,35 (58,5-68,0)
Total	3940	100,00	100,00	28164	13675	48,56	14489	51,44 (50,8-52,0)

La grupul “Alte microorganisme gramnegative,, (1,05%) aparțin *Escherichia coli* Enterohaemorrhagic (EHEC), *P. fluorescens*, *B. cepacia*, *N. flavescens*, *N. mucosa*, *N. sicca*, *N. perflava*, *P. alcalifaciens*, *S. entomophila*, *S. liquefaciens*, *S. marcescens*, *S. rubidaea*, *S. maltophilia*. (tabelul 3.1, figura 3.17). Din tulpinile de fungi decelate de la pacienții cu ISP predomină *C. albicans* – 79,75% și *C. freundii* – 15,19%.

În structura etiologică generală a ISP predomină următoarele specii de microorganisme: *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 microorganismele din genul *Proteus* – 4,5%. Microorganismele enumerate constituie - 79,40% din totalul de tulpini izolate de la pacienții cu ISP.

În funcție de profilul staționarului, structura etiologică a ISP, s-a dovedit a fi de asemenea variată. (tabelul 3.2). În staționările de profil traumatologic, chirurgie maxilo-facială, neurologie și boli cerebrovasculare predomină microorganismele grampozitive (52,38%, 72,69%, 94,57%, 69,33% - respectiv). În cele de chirurgie generală (aseptică și septică), anestezilogie, reanimare și terapie intensivă, urologie și neurochirurgie predomină microorganismele gramnegative – 56,92%, 53,22%, 65,08%, 54,55%, 55,77% - respectiv.

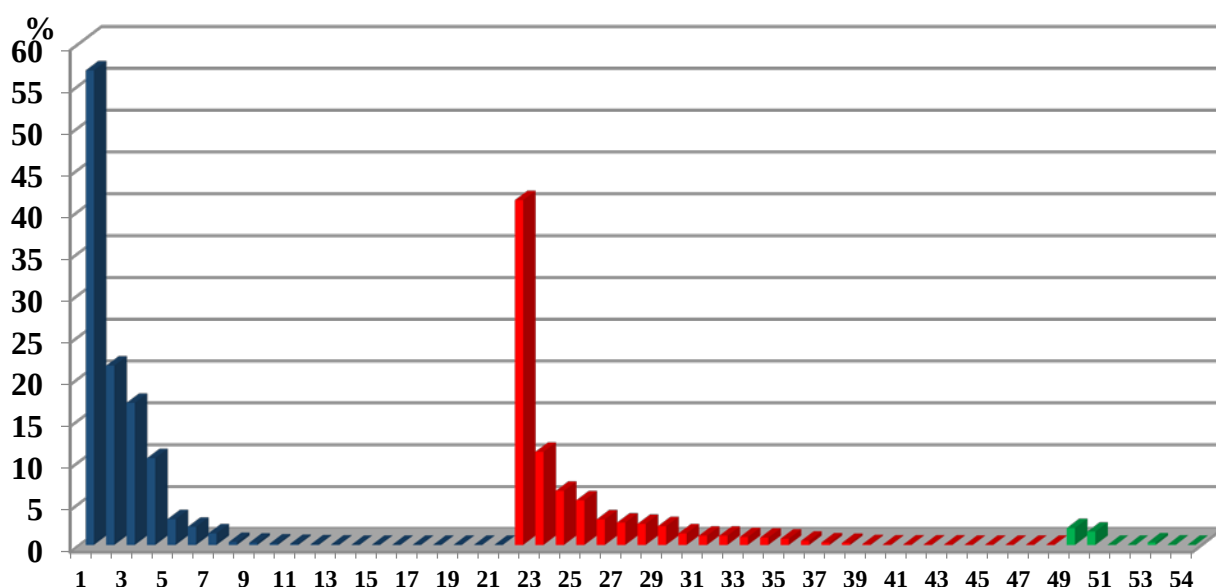


Fig. 3.17. Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU (an. 2010)

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. guillier*

În secțiile de chirurgie aseptică, o pondere mai mare din microorganismele grampozitive au constituit *S. epidermidis* – 16,92%, *E. faecalis* – 15,38% și *S. aureus* – 4,62%, iar din cele gram-negative *E. coli* – 26,15%, *P. aeruginosa* – 7,69% și *K. pneumoniae* – 3,85%. În secțiile de chirurgie septică s-au evidențiat *S. aureus* – 17,15%, *S. epidermidis* – 16,78%, *E. coli* – 13,33% și *P. aeruginosa* – 9,80%.

În secțiile de traumatologie aseptică au predominat *S. epidermidis* – 24,76% și *E. faecalis* – 13,33% din microorganismele grampozitive; din cele gramnegative - *E. coli* - 17,14%, *K. pneumoniae* - 9,05% și *P. aeruginosa* - 5,24%, iar în cele de traumatologie septică - *S. aureus* – 33,80%, *S. epidermidis* – 27,72%, *E. faecalis* – 6,34%, *P. aeruginosa* – 4,83%.

Tabelul 3.2 Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente în funcție de profilul staționarului

Specia microorganismului	Indicii	*Ch. asep.	Ch. sep.	Tr. asep.	Tr. sep.	ATI	Urol.	CMF	BCV	Neur. ch.	Alte secții
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>S. aureus</i>	abs.	6	184	16	245	11	1	14	8	2	7
	%	4,62	17,15	7,62	33,80	2,91	0,51	7,61	10,70	3,85	10,76
<i>S. epidermidis</i>	abs.	22	180	52	201	54	41	82	16	14	11
	%	16,92	16,78	24,76	27,72	14,29	20,71	44,57	21,33	26,92	16,92
<i>S. mutans</i>	abs.	-	-	4	-	7	-	17	12	-	-
	%	-	-	1,90	-	1,85	-	9,24	16,00	-	-
<i>S. pyogenes</i>	abs.	3	21	1	15	3	-	32	2	-	1
	%	2,31	1,96	0,48	2,07	0,79	-	17,40	2,70	-	1,53
<i>S. viridans</i>	abs.	2	10	-	9	5	-	12	1	1	1
	%	1,54	0,93	-	1,24	1,32	-	6,52	1,33	1,92	1,53
<i>E. faecalis</i>	abs.	20	89	28	46	40	42	15	12	5	12
	%	15,38	8,29	13,33	6,34	10,58	21,21	8,15	16,00	9,62	18,46
<i>E. faecium</i>	abs.	1	2	2	1	-	2	2	1	-	2
	%	0,77	0,19	0,95	0,14	-	1,01	1,09	1,33	-	3,10
Alte micro-org. Gram+	abs.	1	8	7	10	2	-	-	-	-	1
	%	0,77	0,75	3,33	1,38	0,53	-	-	-	-	1,53
Tot. micro-org. Gram+	abs.	55	494	110	527	122	86	174	52	22	35
	%	42,31	46,04	52,38	72,69	32,28	43,43	94,57	69,33	42,31	53,84
<i>Acinetobacter</i> sp.	abs.	1	41	9	23	35	6	-	-	-	1
	%	0,77	3,82	4,29	3,17	9,26	3,03	-	-	-	1,53
<i>E. coli</i>	abs.	34	143	36	14	21	41	1	10	9	11
	%	26,15	13,33	17,14	1,93	5,56	20,71	0,54	13,33	17,31	16,92
<i>E. aerogenes</i>	abs.	3	41	2	20	17	4	1	-	1	-
	%	2,31	3,82	0,95	2,76	4,50	2,02	0,54	-	1,92	-
<i>E. cloacae</i>	abs.	2	40	3	16	19	7	1	2	2	2
	%	1,54	3,73	1,43	2,21	5,03	3,54	0,54	2,70	3,85	3,10
<i>K. oxytoca</i>	abs.	4	13	-	3	3	-	-	-	-	-
	%	3,08	1,21	-	0,41	0,79	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	abs.	5	70	19	22	39	15	3	1	5	1
	%	3,85	6,52	9,05	3,03	10,32	7,58	1,63	1,33	9,62	1,53
<i>P. aeruginosa</i>	abs.	10	105	11	35	50	16	-	1	3	10
	%	7,69	9,79	5,24	4,83	13,23	8,08	-	1,33	5,77	15,40
<i>C. freundii</i>	abs.	7	20	2	12	6	2	1	1	-	-
	%	5,38	1,86	0,95	1,66	1,59	1,01	0,54	1,33	-	-
<i>C. diversus</i>	abs.	-	5	2	1	-	1	1	-	-	-
	%	-	0,47	0,95	0,14	-	0,51	0,54	-	-	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
M. morganii	abs.	3	19	1	6	6	2	-	-	1	-
	%	2,31	1,77	0,48	0,83	1,59	1,01	-	-	1,92	-
P. mirabilis	abs.	2	29	4	15	17	9	-	1	3	-
	%	1,54	2,70	1,90	2,07	4,50	4,55	-	1,33	5,77	-
P. rettgeri	abs.	-	3	4	3	23	3	-	-	4	-
	%	-	0,28	1,90	0,41	6,08	1,52	-	-	7,70	-
P. vulgaris	abs.	2	25	1	12	-	-	-	-	-	-
	%	1,54	2,33	0,48	1,66	-	-	-	-	-	-
S. marcescens	abs.	-	9	2	10	4	2	-	1	1	-
	%	-	0,84	0,95	1,38	1,06	1,01	-	1,33	1,92	-
Alte micro-org. Gram-	abs.	1	8	1	4	6	-	-	5	-	-
	%	0,77	0,74	0,47	0,55	1,56	-	-	6,67	-	-
Tot. micro-org. Gram-	abs.	74	571	97	196	246	108	8	22	29	26
	%	56,92	53,22	46,19	27,03	65,08	54,55	4,35	29,33	55,77	40,00
Total fungi	abs.	1	8	3	2	10	4	2	1	1	4
	%	0,77	0,75	1,43	0,28	2,65	2,02	1,09	1,33	1,92	12,31
Tot. tulpini microorg.	abs.	130	1073	210	725	378	198	184	75	52	65
	%	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*Legendă:

Ch. asep. – chirurgie aseptică; Ch. sep. – chirurgie septică; Tr. asep. – traumatologie aseptică; Tr. sep. – traumatologie septică; ATI – anesteziologia, terapie intensivă și reanimare; Urol – urologie; CMF – chirurgie maxilo-facială; Neur, BCV – neurologie și boli cerebrovasculare; Neur. ch. – neurochirurgie;

De la pacienții cu ISP din secțiile de ATI și reanimare, predominant au fost izolate microorganisme gramnegative - P. aeruginosa – 13,23%, K. pneumoniae – 10,32%, Acinetobacter sp. – 9,26%, și P. rettgeri – 6,08%, iar din cele grampozitive cel mai frecvent au fost izolate tulpini de S. epidermidis – 14,30% și E. faecalis – 10,58%.

De la pacienții cu infecții urologice, au fost izolate preponderent tulpini de E. faecalis – 21,21%, S. epidermidis – 20,71%, E. coli – 20,71% și P. aeruginosa – 8,08%. De la pacienții cu ISP în staționările de chirurgie stomatologică, preponderent au fost izolate microorganisme grampozitive - S. epidermidis – 44,57%, S. pyogenes – 17,40%, S. mutans – 9,24%, E. faecalis – 8,15% și S. aureus – 7,61%; în secția de microchirurgie - preponderent P. aeruginosa – 37,04% și S. aureus – 18,52%, E. coli – 7,40%, E. cloacae – 7,40%, S. epidermidis – 3,70%.

De la pacienții cu ISP din secțiile de neurologie și BCV au fost izolate preponderent microorganisme grampozitive, dintre care S. epidermidis – 21,33%, S. mutans – 16,00%, S. aureus – 10,70% și E. faecalis – 16,00%. Iar de la pacienții cu ISP neurochirurgicali, au fost izolate preponderent tulpini de microorganisme gramnegative - E. coli – 17,31%, K. pneumoniae – 9,62% și P. rettgeri – 7,70%, Proteus – 13,46%, P. aeruginosa – 5,77%. De la pacienții cu ISP din cadrul altor secții ale IMSP IMU au fost izolate 65 de tulpini, dintre care au predominat microorganismele

grampozitive – 53,84%, iar cele gramnegative au avut o pondere de 40,00%. Din microorganismele grampozitive, mai frecvent izolate au fost *E. faecalis* – 18,46%, *S. epidermidis* – 16,92% și *E. coli* – 16,92% din grupul microorganismelor gramnegative. Fungii au avut o pondere de 12,31% din totalul microorganismelor decelate în alte secții (tabelul 3.2).

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 constituit 28164, dintre care în 14489 probe (51,44%) tulpinile de microorganisme au manifestat rezistență față de antibiotice iar în 13675 probe (48,56%) au manifestat sensibilitate. Un grad mai înalt de rezistență față de antibiotice au manifestat microorganismele gramnegative – în 8808 probe sau 61,66% și, invers, sensibilitate - în 5478 probe (38,34%). Microorganismele grampozitive s-au dovedit a fi sensibile în 8047 probe (59,75%) și rezistente în 5420 probe - 40,25%. (tabelul 3.1)

Din microorganismele grampozitive, 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, cât și tulpinile de microorganisme mai rar decelate (grupul “Alte microorganisme,,) - 59,40%. (tabelul 3.1).

Spre deosebire de tulpinile de microorganisme grampozitive, majoritatea tulpinilor de microorganisme gramnegative au manifestat rezistență sporită față de antibiotice, în special cele din genurile *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*. 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, și doar în 13,13% din probe au fost sensibile. Din genul *Proteus*, cea mai înaltă rezistență au manifestat-o tulpinile de *P. rettgeri* – în 83,40% din probe, urmate de tulpinile de *P. mirabilis* – în 64,68%. Tulpinile de *K. pneumoniae* au manifestat rezistență față de antibiotice în 73,35% din probe de antibiotice, iar cele de *P. aeruginosa* – în 60%. Tulpinile de fungi au manifestat rezistență față de antibiotice în 63,35% din probe și, invers sensibilitate în 36,65% din probe (tabelul 3.1).

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor de microorganisme decelate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU, în funcție de grupul de antibiotice a constatat, că o rezistență mai înaltă microorganismele date manifestă față de peniciline (65,40%), cefalosporine (79,40%), inclusiv față de cefalosporinele din prima generație (74,76%), de generația a doua (93,30%), generația a treia (73,80%) și de generația a patra (85,50%). Sensibilitatea microorganismelor față de aceste grupe de antibiotice a fost respectiv: 34,60%, 20,60%, 25,24%, 6,70%, 26,20% și 14,50%. O sensibilitate mai înaltă tulpinile decelate au prezentat față de următoarele grupe de antibiotice:

Tabelul 3.3 Sensibilitatea/rezistența tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP, în funcție de grupul antibioticelor

Grupul antibioticelor	Microorganisme grampozitive				Microorganisme gramnegative				Total			
	S		R		S		R		S		R	
	abs.	%	abs.	% (95% C.I.)	abs.	%	abs.	% (95% C.I.)	abs.	%	abs.	% (95% C.I.)
Peniciline	894	42,53	1208	57,47 (55,3-59,6)	235	20,22	927	79,78 (77,4-82,1)	1129	34,60	2135	65,40 (63,8-67,0)
Beta-lactam+Inhib.	544	81,40	124	18,60 (15,7-21,2)	41	16,70	204	83,20 (78,4-88,0)	585	64,00	328	36,00 (32,8-39,1)
Cefalosp. I gen.	485	33,90	946	66,10 (63,6-68,6)	87	10,40	748	89,60 (87,0-91,2)	572	25,24	1694	74,76 (72,9-76,5)
Cefalosp. II gen.	7	15,60	38	84,40 (70,5-93,5)	90	6,40	1319	93,60 (92,2-94,8)	97	6,70	1056	93,30 (91,9-94,6)
Cefalosp. III gen.	78	41,50	110	58,50 (51,1-65,6)	469	24,70	1431	75,30 (73,3-77,2)	547	26,20	1541	73,80 (71,9-75,7)
Cefalosp. IV gen.	1	12,50	7	87,50 (47,4-99,7)	42	14,60	246	85,40 (80,8-89,3)	43	14,50	253	85,50 (80,9-89,3)
Total Cefalosporine	571	34,15	1101	65,85 (63,5-68,1)	688	15,52	3744	84,48 (83,4-85,5)	1259	20,60	4845	79,40 (78,3-80,4)
Monobactame	-	-	-	-	4	2,10	184	97,90 (94,6-99,4)	4	2,10	184	97,90 (94,6-99,4)
Peneme	32	61,54	20	38,46 (25,3-53,0)	327	81,14	76	18,86 (15,2-23,0)	359	78,90	96	21,10 (17,4-25,1)
Aminoglicozide	1394	87,67	196	12,33 (10,8-14,0)	1704	51,60	1600	48,40 (46,7-50,1)	3098	63,30	1796	36,70 (35,4-38,1)
Chinolone	1544	77,94	437	22,06 (20,3-24,0)	2016	54,80	1662	45,20 (43,6-46,8)	3560	62,90	2099	37,10 (35,8-38,4)
Lincomicine	878	60,00	585	40,00 (37,5-42,5)	-	-	-	-	878	60,00	585	40,00 (37,5-42,5)
Macrolide	1779	54,45	1488	45,54 (43,8-47,2)	10	28,60	25	71,40 (53,7-85,4)	1789	54,20	1513	45,80 (44,1-47,5)
Nitrofurane	7	87,50	1	12,50 (0,3-52,7)	36	35,30	66	64,70 (54,6-73,9)	43	39,10	67	60,90 (51,1-70,1)
Oxazolidine	122	93,10	9	6,90 (3,2-12,6)	-	-	-	-	122	93,10	9	6,90 (3,2-12,6)
Glicopeptide	257	51,40	243	48,60 (44,1-53,1)	-	-	-	-	257	51,40	243	48,60 (44,1-53,1)
Phenicols	19	79,20	5	20,80 (7,1-42,2)	417	57,80	305	42,20 (38,6-45,9)	436	58,40	310	41,50 (38,0-45,2)
Tetracicline	5	62,50	3	37,50 (8,5-75,5)	-	-	10	100,0 (69,2-100,0)	5	27,80	13	72,20 (46,5-90,3)
Antifungice	-	-	-	-	-	-	-	-	151	36,65	261	63,35 (58,5-68,0)
Total antibiotice	8046	59,75	5420	40,25 (39,4-41,1)	5478	38,34	8808	61,66 (60,9-62,5)	13676	48,56	14489	51,44 (50,9-52,0)

peneme (78,90%), beta-lactam+inhibitor (64,0%), aminoglicozide (63,30%), lincomicine (60,00%) (tabelul 3.3, figura 3.18). Microorganismele gramnegative s-au manifestat printr-o rezistență mult mai mărită față de antibiotice în comparație cu microorganismele grampozitive, în 61,66% și sensibilitate în 38,34%. O rezistență mai înaltă microorganismele gramnegative au manifestat față de peniciline (79,78%), beta-lactam+inhibitor – 83,20%, cefalosporine de generația I, II și a IV - 89,60%, 93,60% și respectiv 85,40%. Sensibile au fost față de peneme (81,14%), phenicols (57,80%), aminoglicozide (51,60%), chinolone (54,80%).

Microorganismele grampozitive izolate de la pacienții cu ISP au manifestat de asemenea rezistență sporită față de antibioticele din grupul penicilinelor (57,47%), grupul cefalosporinelor (65,85%), cefalosporine de I, II și a IV generație (66,10%, 84,40% și respectiv 87,50%). Sensibilitatea cea mai mare, aceste microorganisme au manifestat față de aminoglicozide (87,67%), beta-lactam+inhibitor (81,40%), chinolone (77,94%), peneme (61,54%), oxazolidine (93,10%) (tabelul 3.3).

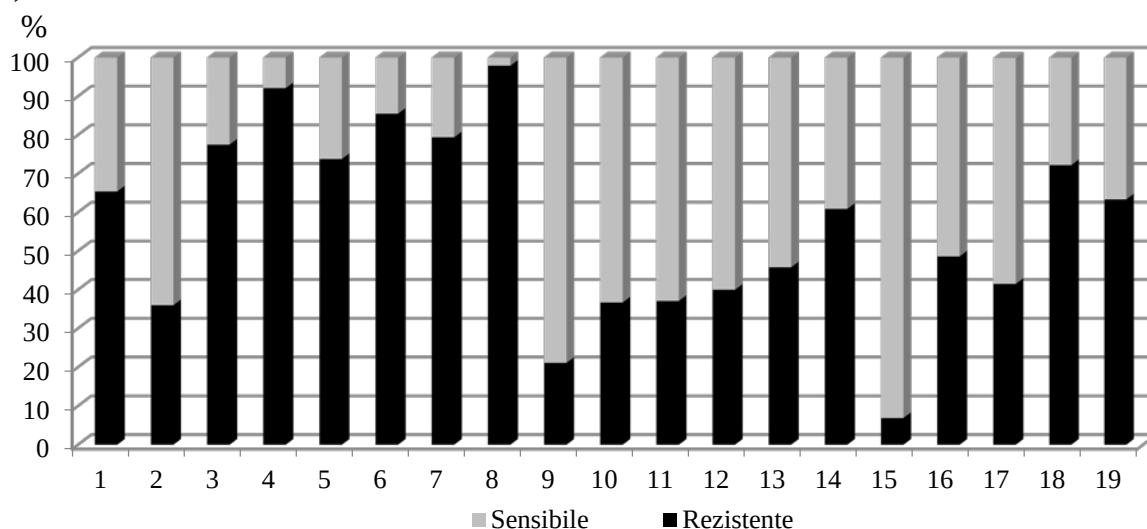
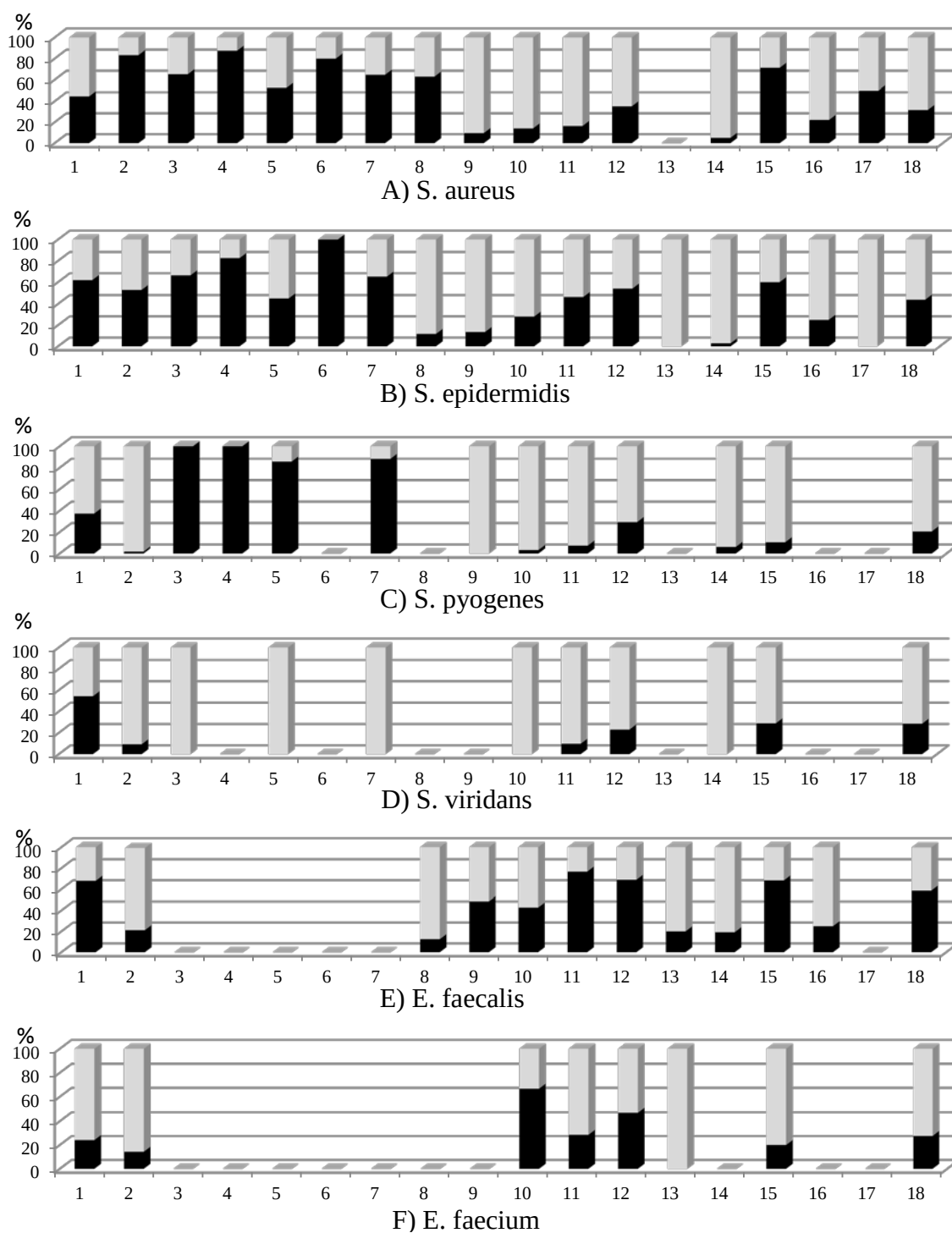


Fig. 3.18. Antibioticorezistența / sensibilitatea microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP în funcție de grupele de antibiotice:

- 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) Phenicols; 18) Tetraciline; 19) Antifungice;

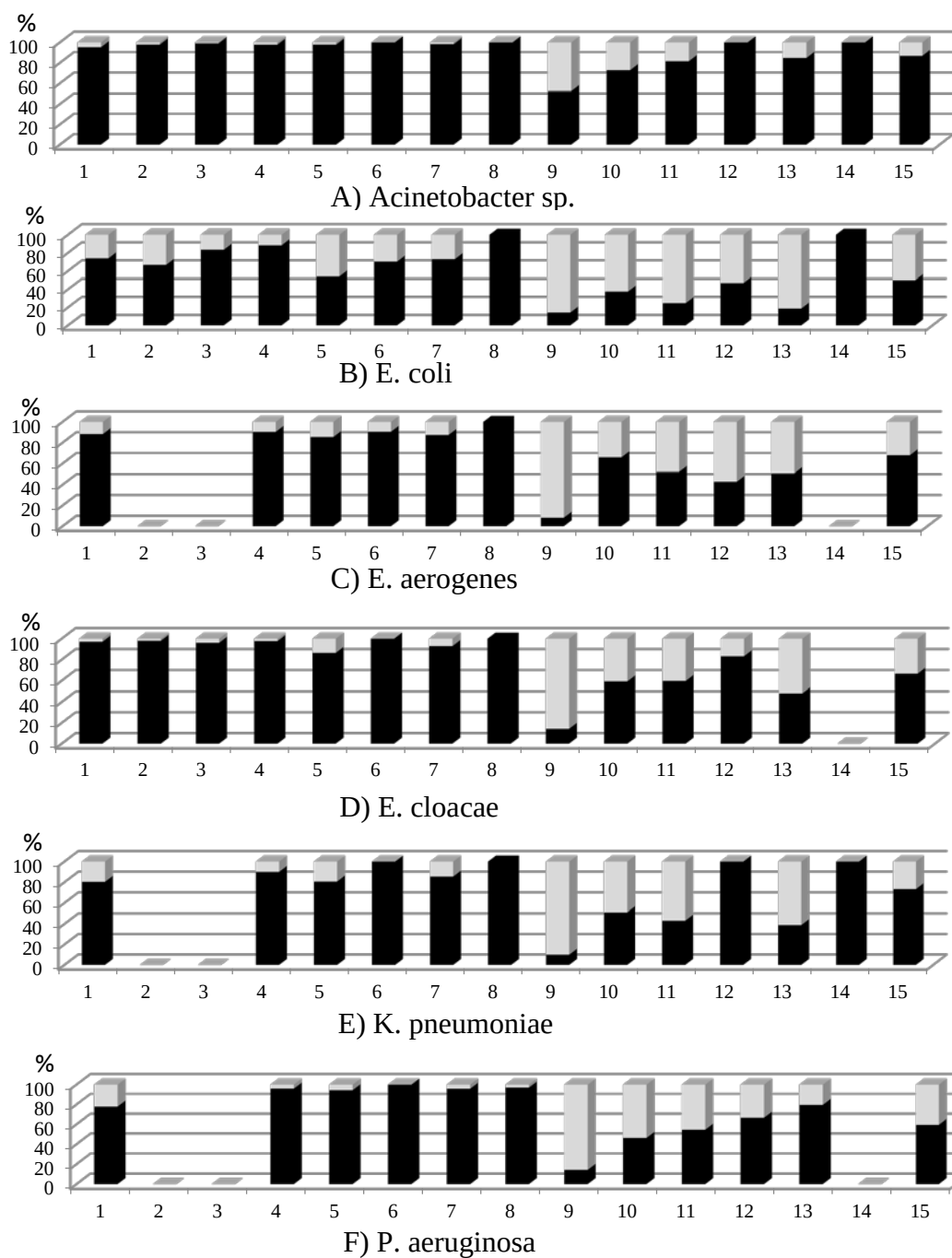
În funcție de frecvența izolării tulpinilor de microorganisme grampozitive sensibile și rezistente la antibiotice, tulpinile de *S. aureus* au manifestat o rezistență mai sporită față de grupul cefalosporinelor (64,70%), peneme (62,96%), beta-lactam+inhibitor (83,30%) și glicopeptide (71,40%).

La oxacilină (MRSA) au fost rezistente 43,60% din 370 tulpini testate la acest antibiotic. La antibioticele din grupul cefalosporinelor, tulpinile de *S. aureus*, au fost rezistente în 64,70% din probe și în special la cefalosporinele de II generație – 87,50% și generația a IV – 80,00%.



Legendă: ■ - Sensibile; ■ - Rezistente;

Fig. 3.19. Sensibilitatea / rezistența microorganismelor grampozitive în funcție de tipul microorganismului (A) *S. aureus*, B) *S. epidermidis*, C) *S. pyogenes*, D) *S. viridans*, E) *E. faecalis*, F) *E. faecium*) și grupul antibioticului – 1) Peniciline, 2) Beta-lactam+inhibitor, 3) Cefalosporine I gen., 4) Cefalosporine II gen., 5) Cefalosporine III gen., 6) Cefalosporine IV gen., 7) Total Cefalosporine, 8) Peneme, 9) Aminoglicozide, 10) Chinolone, 11) Lincomicine, 12) Macrolide, 13) Nitrofurane, 14) Oxazolidine, 15) Glicopeptide, 16) Phenicolis, 17) Tetraciline; 18) Total.



Legendă: ■ - Sensibile; ■ - Rezistente;

Fig. 3.20. Sensibilitatea / rezistența microorganismelor gramnegative în funcție de tipul microorganismului A) *Acinetobacter* sp., B) *E. coli*, C) *E. aerogenes*, D) *E. cloacae*, E) *K. pneumoniae*, F) *P. aeruginosa* și grupul antibioticului 1)Peniciline, 2) Beta-lactam+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) Nitrofurane, 13) Phenicols, 14) Tetraciline, 15) Total.

Sensibilitate mai înaltă, tulpinile de *S. aureus* au prezentat la aminoglicozide – 90,36%, oxazolidine – 94,90% și chinolone – 85,87% (figura 3.19).

Tulpinile de *S. epidermidis* au manifestat rezistență sporită la antibioticele din clasa penicilinelor – 61,97%, cefalosporine gen. II – 82,60%, cefalosporine I generație – 66,40%, cât și față de macrolide – 53,95%. Și invers o sensibilitate sporită tulpinile de *S. epidermidis* au prezentat-o față de peneme – 88,24%, aminoglicozide – 86,45%, chinolone – 71,92%. Tulpinile de *S. pyogenes* au prezentat o rezistență sporită față de grupul cefalosporinelor – 88,24%, iar sensibilitate sporită - față de chinolone – 96,70%, lincomicine – 92,60%, macrolide – 70,70% și oxazolidine – 93,80%. Tulpinile de *E. faecalis* s-au evidențiat printr-o rezistență sporită față de peniciline – 67,92%, lincomicine – 76,70%, macrolide – 68,90% și glicopeptide – 68,30%. Totodată aceste microorganisme au fost sensibile față de beta-lactam+inhibitor – 78,80%, peneme – 87,50%, nitrofurane - 80,00% și oxazolidine – 80,80%. Tulpinile din grupul „alte microorganisme grampozitive” au manifestat rezistență sporită la peniciline – 81,58%, cefalosporine de I generație – 72,73%, și a III generație – 85,20%, invers sensibilitate sporită față de macrolide – 81,82%, chinolone – 86,96% (figura 3.19).

Din microorganismele gramnegative, tulpinile de *Acinetobacter* sp. au prezentat rezistență sporită față de chinolone – 81,60%, aminoglicozide – 72,80%, cefalosporine de toate generațiile – 98,30%, în special față de cele de generația a III – 97,85% și generația a II – 97,80%, cât și față de peniciline – 95,30%. Aceste tulpini au manifestat sensibilitate numai față de peneme – 47,50% (figura 3.20).

Tulpinile de *E. coli*, de asemenea, s-au dovedit a fi foarte rezistente față de majoritatea grupelor de antibiotice: peniciline – 73,90%, beta-lactam+inhibitor – 66,70%, cefalosporine – 73,00%, monobactame și tetracicline – 100%, și, invers, sensibile față de peneme – 85,70%, aminoglicozide – 62,40% și chinolone -75,26% (figura 3.20).

Tulpinile de *E. aerogenes* s-au dovedit a fi rezistente față de peniciline – 88,30%, cefalosporine – 87,50% și aminoglicozide – 66,05%, și sensibile față de peneme – 91,70%, nitrofurane – 57,10%, chinolone – 47,80% (figura 3.20).

Tulpinile de *K. pneumoniae* au manifestat rezistență față de majoritatea grupelor de antibiotice, în special față de peniciline – 97,1%, cefalosporine de toate generațiile – 92,95%, în special față de cele de I și a II generație – 96,10% și 97,70%, nitrofurane – 83,30%, chinolone – 59,80% și invers, sensibilitate - față de aminoglicozide – 40,60% și phenicols – 51,80% din tulpini.

Din totalul de tulpini de *P. aeruginosa* rezistente față de peniciline s-au dovedit a fi - 77,90%, cefalosporine – 95,90%, monobactame – 97,00%, nitrofurane – 66,70%. (fig. 3.20).

Totodată, tulpinile de *P. aeruginosa* au manifestat sensibilitate față de peneme - 85,65%, și 53,68% față de aminoglicozide.

Și tulpinile de *C. freundii* au manifestat rezistență înaltă față de majoritatea grupelor de antibiotice: peniciline – 58,82%, cefalosporine de II generație – 95,12%, generația a III – 81,30% și total cefalosporine – 85,16%. Ele s-au dovedit a fi sensibile față de chinolone – 79,46% și aminoglicozide – 63,03%, (figura 3.20).

Din tulpinile din genul *Proteus*, rezistență mai înaltă față de antibiotice au manifestat tulpinile de *P. rettgeri*, în special față de peniciline – 96,67%, chinolone – 81,90%, cefalosporine – 96,26%, aminoglicozide – 71,90%, și invers sensibile față de peneme – 61,54%.

Tulpinile de *S. marcescens* se evidențiază printr-o rezistență sporită față de majoritatea claselor de antibiotice, în special față de peniciline – 80,00%, cefalosporine – 86,60%, cefalosporine II generație – 95,65%, și invers sensibile, față de peneme - 50,00%, aminoglicozide – 75,80% și chinolone – 65,30% (figura 3.20).

Așadar, agenții cauzali ai ISP se deosebesc prin polimorfism etiologic și rezistență sporită la antibiotice. Predomină microorganismele gram-pozitive, cu o pondere de 56,78% din total, microorganismele gram-negative constituind – 41,22%. Structura etiologică a ISP variază în funcție de profilul secției. Un nivel mai înalt de rezistență la antibiotice manifestă microorganismele gram-negative – 61,66%, comparativ cu cele gram-pozitive – 40,25%.

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

În structura etiologică, din totalul de tulpini izolate (n=2237) microorganismele grampozitive au constituit 55,28% (n=1774) la pacienții din staționar și 63,34% (n=463) la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu, microorganismele gramnegative - 43,47% (n=1395) și 31,33% (n=229), respectiv, și fungii 1,25% (n=40) și 5,34% (n=39), respectiv (tabelul 3.4).

Din microorganismele grampozitive, la pacienții tratați în staționar au predominat tulpinile de *S. epidermidis* – 21,53%, față de 21,07% la pacienții tratați ambulatoriu și *S. aureus* – 17,36% - staționar și 15,60% - ambulatoriu. Microorganismele din genul *Streptococcus* spp., evident predomină la pacienții ambulatorii: *S. pyogenes* – 5,47% la pacienții tratați ambulatoriu și 2,52% - la pacienții tratați staționar, *S. mutans* – 5,88% și 1,34%, *S. viridans* – 1,64% și 1,34% și microorganismele din genul *Enterococcus* spp. – 12,86% și 10,26%, respectiv (tabelul 3.4).

Din rândul microorganismelor gramnegative, de la pacienții tratați în staționar au fost izolate mai frecvent tulpini de *P. aeruginosa* – 7,54%, *Klebsiella* spp. – 6,54%, *Enterobacter* spp.

– 5,76%, *Proteus* spp.– 5,00% și *Acinetobacter* spp. – 3,65%, pe când de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu, mai frecvent au fost izolate tulpini de *E. coli* – 15,73%, *Klebsiella* spp. – 6,54% și *Enterobacter* spp. – 2,74%.

Tabelul 3.4 Structura etiologică comparativă a infecțiilor septico-purulente la pacienții tratați în staționar și ambulatoriu

	Microorganismele (specia)	Pacienți staționar		Pacienți ambulatoriu	
		Nr. tulpini	% din total	Nr. tulpini	% din total
Microorganisme grampozitive	<i>S. aureus</i>	557	17,36	114	15,60
	<i>S. epidermidis</i>	691	21,53	154	21,07
	<i>S. haemolyticus</i>	5	0,16	2	0,27
	<i>S. mutans</i>	43	1,34	43	5,88
	<i>S. pyogenes</i>	81	2,52	40	5,47
	<i>S. viridans</i>	43	1,34	12	1,64
	<i>E. faecalis</i>	316	9,85	93	12,72
	<i>E. faecium</i>	13	0,41	1	0,14
	<i>B. alvei</i>	11	0,34	-	-
	Alte microorg.	14	0,44	4	0,54
	Total microorg. Gram+	1774	55,28	463	63,34
Microorganisme gramnegative	<i>Acinetobacter</i> sp.	117	3,65	4	0,55
	<i>E. coli</i>	324	10,10	115	15,73
	<i>E. aerogenes</i>	90	2,80	10	1,37
	<i>E. cloacae</i>	95	2,96	10	1,37
	<i>K. oxytoca</i>	26	0,81	4	0,55
	<i>K. pneumoniae</i>	184	5,73	27	3,70
	<i>P. aeruginosa</i>	242	7,54	13	1,78
	<i>C. freundii</i>	52	1,62	3	0,41
	<i>C. diversus</i>	10	0,31	-	-
	<i>M. morganii</i>	38	1,18	-	-
	<i>P. mirabilis</i>	80	2,49	9	1,23
	<i>P. rettgeri</i>	40	1,25	4	0,55
	<i>P. vulgaris</i>	40	1,25	4	0,55
	<i>P. alcalifaciens</i>	11	0,34	1	0,14
	<i>S. marcescens</i>	30	0,93	4	0,55
	<i>N. perflava</i>	8	0,25	12	1,64
	Alte microorg.	8	0,25	9	1,23
	Total microorg. Gram-	1395	43,47	229	31,33
Fungi	<i>C. albicans</i>	33	1,03	30	4,10
	<i>C. guilliermondii</i>	-	-	1	0,14
	<i>C. pseudotropicalis</i>	1	0,03	-	-
	<i>C. krusei</i>	5	0,16	7	0,96
	<i>C. tropicalis</i>	1	0,03	1	0,14
	Total fungi	40	1,25	39	5,34
	Total	3209	100,00	731	100,0

Fungii au avut o pondere de 1,25% în structura etiologică a agenților cauzali la pacienții din staționar și 5,34% la cei tratați ambulatoriu (tabelul 3.4).

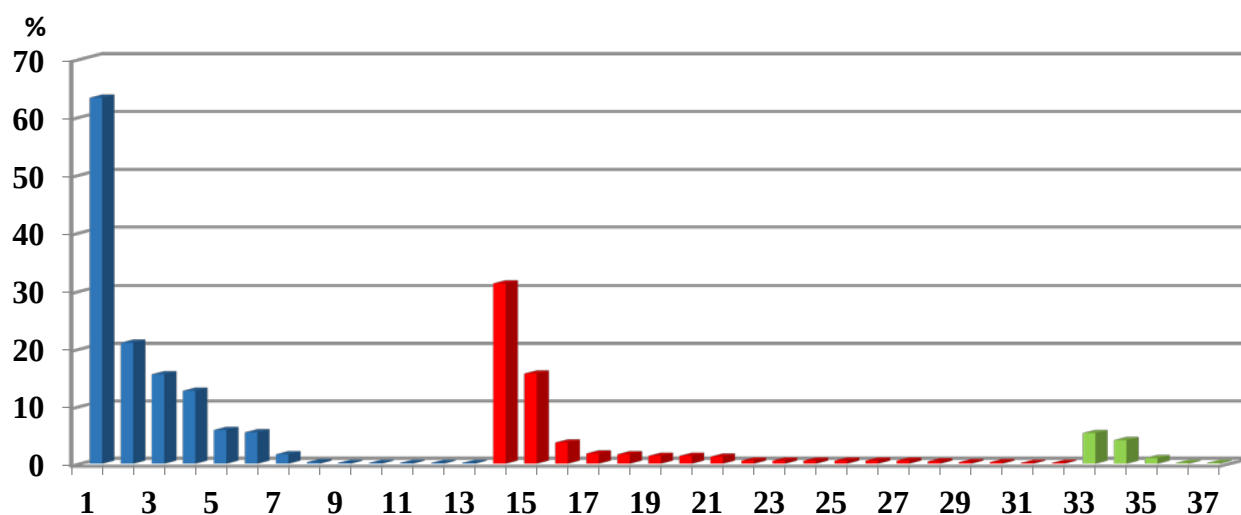


Fig. 3.21 Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu
 1) **Total microorganisme grampozitive**; 2) *S. epidermidis*; 3) *S. aureus*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. mutans*; 6) *S. pyogenes*; 7) *S. viridans*; 8) *S. haemolyticus*; 9) *E. faecium*; 10) *B. cereus*; 11) *B. subtilis*; 12) *M. alvei*; 13) *S. salivarius*; **14) Total microorganisme gramnegative**; 15) *E. coli*; 16) *K. pneumoniae*; 17) *P. aeruginosa*; 18) *N. perflava*; 19) *E. aerogenes*; 20) *E. cloacae*; 21) *P. mirabilis*; 22) *P. rettgeri*; 23) *P. vulgaris*; 24) *K. oxytoca*; 25) *S. marcescens*; *M. morganii*; 26) *Acinetobacter* sp.; 27) *N. sicca*; 28) *C. freundii*; 29) *EHEC*; 30) *N. flavescens*; *C. diversus*; 31) *N. mucosa*; 32) *P. alcalifaciens*; *B. cepacia*; **33) Total fungi**; 34) *C. albicans*; 35) *C. krusei*; 36) *C. tropicalis*; 37) *C. guilliermondii*;

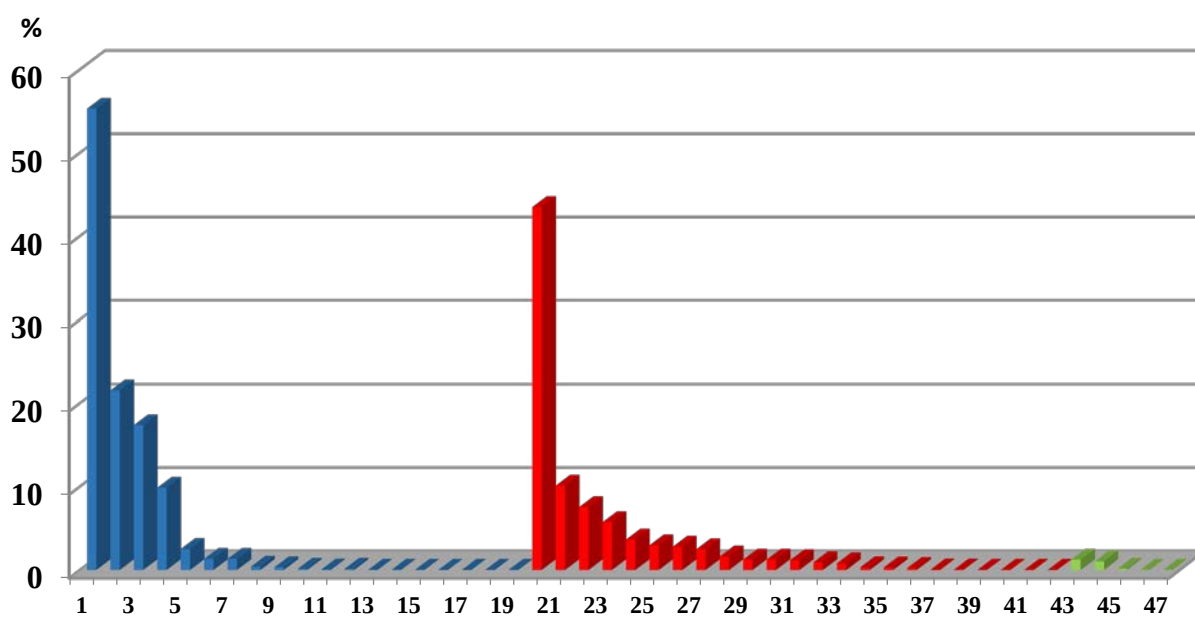


Fig. 3.22 Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar
 1) **Total microorganisme grampozitive**; 2) *S. epidermidis*; 3) *S. aureus*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. pyogenes*; 6) *S. mutans*; 7) *S. viridans*; 8) *E. faecium*; 9) *B. alvei*; 10) *B. megaterium*; 11) *B. subtilis*; 12) *S. haemolyticus*; 13) *S. intermedius*; 14) *S. mitis*; 15) *B. cereus*; 16) *B. firmus*; 17) *B. laterosporus*; 18) *C. pseudodiphtheriticum*; 19) *C. pseudotuberculosis*; 20) **Total microorganisme gramnegative**; 21) *E. coli*; 22) *P. aeruginosa*; 23) *K. pneumoniae*; 24) *Acinetobacter* sp.; 25) *E. cloacae*; 26) *E. aerogenes*; 27) *P. mirabilis*; 28) *C. freundii*; 29) *P. rettgeri*; 30) *P. vulgaris*; 31) *M. morganii*; 32) *S. marcescens*; 33) *K. oxytoca*; 34) *P. alcalifaciens*; 35) *C. diversus*; 36) *N. perflava*; 37) *B. cepacia*; 38) *S. liquefaciens*; 39) *P. fluorescens*; 40) *S. entomophila*; 41) *S. rubidaea*; 42) *S. maltophilia*; 43) **Total fungi**; 44) *C. albicans*; 45) *C. krusei*; 46) *C. pseudotropicalis*; 47) *C. tropicalis*;

Tabelul 3.5 Antibioticosensibilitatea / rezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu

Microorganismele	Pacienți staționar			Pacienți ambulatoriu		
	Nr test. la antib.	S*	R**	Nr test. la antib.	S	R
		%	% (95% C.I.)		%	% (95% C.I.)
Microorganisme grampozitive						
S. aureus	3435	66,9	33,10 (31,5-34,7)	697	75,47	24,53 (44,4-97,5)
S. epidermidis	4224	54,64	45,36 (43,9-46,9)	968	62,29	37,71 (34,6-40,9)
S. haemolyticus	30	63,33	36,67 (19,9-56,1)	13	100,0	0 (0-24,7)
S. mutans	264	71,21	28,79 (23,4-34,7)	260	71,92	28,08 (22,7-34,0)
S. pyogenes	491	80,24	19,76 (16,3-23,6)	241	77,59	22,41 (17,3-28,2)
S. viridans	259	71,43	28,57 (23,2-34,5)	73	71,23	28,77 (18,8-40,6)
E. faecalis	1747	39,55	60,45 (58,1-62,8)	493	46,86	53,14 (48,6-57,6)
E. faecium	74	70,27	29,73 (19,7-41,8)	6	100	0 (0-45,9)
B. alvei	66	53,03	46,97 (34,6-59,7)	-	-	-
Alte microorg.	89	49,44	50,56 (39,8-61,3)	36	77,80	22,20 (10,1-39,2)
Total microorg. Gram+	10679	58,19	41,81 (40,9-42,8)	2787	65,73	34,27 (32,5-36,1)
Microorganisme gramnegative						
Acinetobacter sp.	1253	12,21	87,79 (85,9-89,6)	42	40,48	59,52 (43,3-74,4)
E. coli	3073	48,45	51,55 (49,8-53,3)	1058	54,25	45,75 (42,7-48,8)
E. aerogenes	729	29,36	70,64 (67,2-73,9)	81	55,56	44,44 (33,4-55,9)
E. cloacae	741	38,06	61,94 (58,3-65,5)	74	66,22	33,78 (23,2-45,7)
K. oxytoca	234	36,75	63,25 (56,7-69,4)	35	65,71	34,29 (19,1-52,2)
K. pneumoniae	1702	24,15	75,85 (73,7-77,9)	249	43,78	56,22 (49,8-62,5)
P. aeruginosa	1885	40,21	59,79 (57,5-62,0)	100	47,0	53,00 (42,8-63,1)
C. freundii	408	52,94	47,06 (42,1-52,0)	27	25,90	74,10 (53,7-88,9)
C. diversus	96	53,13	46,88 (36,6-57,3)	-	-	-
M. morganii	299	53,51	46,49 (40,7-52,3)	-	-	-
P. mirabilis	781	33,8	66,20 (62,8-69,5)	74	51,35	48,65 (36,9-60,6)
P. rettgeri	370	15,95	84,05 (79,9-87,6)	28	25,0	75,0 (55,1-89,3)
P. vulgaris	355	51,55	48,45 (43,1-53,8)	30	40,0	60,0 (40,6-77,3)
P. alcalifaciens	105	6,67	93,33 (86,8-97,3)	11	9,10	90,90 (58,7-99,8)
S. marcescens	227	40,97	59,03 (52,3-65,5)	30	50,0	50,0 (31,3-68,7)
N. perflava	36	50,0	50,0 (33,0-67,1)	55	56,36	43,64 (30,3-57,7)
Alte microorg.	57	61,40	38,60 (26,0-52,4)	41	58,54	41,46 (26,3-57,9)
Total microorg. Gram-	12351	36,26	63,74 (62,9-64,6)	1935	51,63	48,37 (46,1-50,6)
Fungi						
C. albicans	169	36,69	63,31 (55,7-70,6)	157	32,48	67,52 (59,6-74,8)
C. guilliermondii	-	-	-	5	40,00	60,00 (14,7-94,7)
C. pseudotropicalis	5	20,00	80,00 (28,4-99,5)	-	-	-
C. krusei	28	50,00	50,00 (30,7-69,4)	37	45,95	54,05 (36,9-70,5)
C. tropicalis	6	-	100,0 (54,1-100,0)	5	80,00	20,00 (0,5-71,6)
Total fungi	208	37,02	62,98 (56,0-69,6)	204	36,27	63,73 (56,7-70,3)
Total	23238	46,35	53,65 (53,0-54,3)	4926	58,97	41,03 (39,6-42,4)

* sensibile; ** rezistente;

Analiza sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate față de antibiotice a constatat că din totalul probelor de testare (n=23238) 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 (n=4926 probe), în 41,02% probe microorganismele izolate au prezentat rezistență și în 58,98% – sensibilitate.

Așadar, rezistența generală a microorganismelor izolate de la pacienții din staționar, este mult mai înaltă față de cele din ambulatoriu, și este confirmată statistic ($t=16,32$, $p<0,05$).

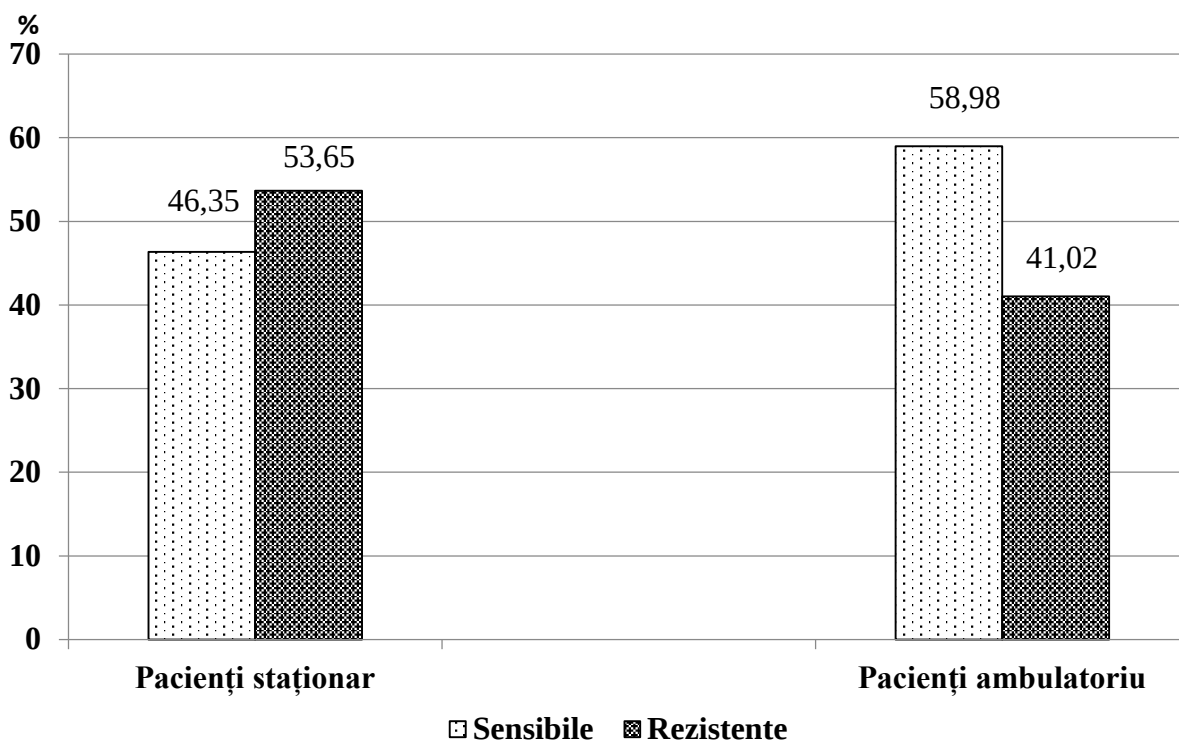


Fig. 3.23. Antibioticosensibilitatea / rezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP tratați în staționar și ambulatoriu

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, în 65,75% sensibile și în 34,25% - rezistente ($t=7,43$, $p<0,05$) (tabelul 3.5).

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 ($t=12,64$, $p<0,05$). Fungii au avut practic același nivel de rezistență – 62,98% la pacienții tratați în staționar și 63,73% la cei din ambulatoriu, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,15$, $p>0,05$).

Și la nivel de specii s-a constatat o diferență semnificativă de rezistență / sensibilitate a agenților cauzali izolați de la pacienții tratați staționar sau ambulatoriu. De exemplu, tulpinile de *S. aureus*, izolate de la pacienții tratați staționar, s-au dovedit a fi sensibile în 66,90% și, invers, rezistente în 33,10%, spre deosebire de cele izolate de la pacienții ambulatorii - 75,47% sensibile și numai 24,53% rezistente ($t=4,71$, $p<0,05$).

Tulpinile de *S. epidermidis* izolate de la pacienții tratați în staționar, s-au dovedit a fi rezistente în 45,36% și sensibile în 54,64%, pe când tulpinile de *S. epidermidis* izolate de la

pacienții tratați ambulatoriu au manifestat rezistență în 37,71% și sensibilitate în 62,29% probe ($t=4,41$, $p<0,05$).

Nivelul de rezistență al tulpinilor de *S. mutans* a fost practic același și mic la ambele categorii de pacienți – 28,79% la cei tratați în staționar și 28,08% la cei din ambulatoriu, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,18$, $p>0,05$).

În staționar, tulpinile de *S. pyogenes* ($n=81$) s-au dovedit a fi sensibile în 394 (80,24%) probe și rezistente în 97 (19,76%) probe. Deși tulpinile de *S. pyogenes* ($n=40$), izolate din ambulatoriu, s-au dovedit a fi mai rezistente (22,41%) cu 2,76%, însă acest rezultat e nesemnificativ statistic ($t=0,38$, $p>0,05$).

De asemenea și la tulpinile de *S. viridans* nu s-a observat o diferență semnificativă cu privire la nivelul de sensibilitate/rezistență – 71,43% sensibile și 28,57% rezistente – tulpinile izolate de pacienții tratați în staționar și 71,23% sensibile și 28,77% la cei tratați ambulatoriu ($t=0,03$, $p>0,05$).

Tulpinile de *E. faecalis* au fost cele mai rezistente din grupul microorganismelor grampozitive, 60,45% la pacienții tratați în staționar și 53,14% la cei tratați ambulatoriu ($t=2,88$, $p<0,05$).

Tulpinile de *E. faecium* izolate de la pacienții tratați în staționar s-au dovedit a fi rezistente în 29,73% din probe, pe când cele izolate de la pacienții ambulatorii n-au manifestat rezistență.

Tulpinile de *Acinetobacter spp.*, izolate din staționar au fost rezistente în 87,79% probe și sensibile în doar 12,21%, iar cele izolate din ambulatoriu s-au dovedit a fi rezistente în 59,52% și sensibile în 40,48% probe, rezultatul fiind semnificativ statistic ($t=3,70$, $p<0,05$) (tabelul 3.5).

Tulpinile de *E. coli* izolate din staționar au manifestat rezistență în 1548 probe (51,55%), iar cele din ambulatoriu ($n=115$) în 484 probe (45,75%), mai puțin rezistente cu 5,8%, rezultat care s-a dovedit a fi semnificativ statistic ($t=3,26$, $p<0,05$).

Tulpinile de *E. aerogenes* izolate în staționar au fost rezistente în 70,64% probe și sensibile în 29,36%, iar tulpinile de *E. aerogenes* izolate de la pacienții ambulatorii au fost cu 26,02% mai puțin rezistente, diferența având semnificație statistică ($t=4,53$, $p<0,05$).

Un nivel de rezistență înalt s-a înregistrat și la tulpinile de *E. cloacae*, în special la cele de la pacienții din staționar – 61,94% comparativ cu 33,78% la cei din ambulatoriu ($t=4,87$, $p<0,05$).

Deși tulpinile de *K. oxytoca* izolate de la pacienții din staționar au fost rezistente în 63,25%, cele de la pacienții tratați ambulatoriu în doar 34,29% ($t=3,36$, $p<0,05$).

Tulpinile de *K. pneumoniae*, izolate din staționar au fost rezistente în 75,85% probe și sensibile în 24,15% probe, pe când cele izolate de la pacienții ambulatorii au manifestat rezistență în 56,22% probe, și invers sensibilitate în 43,78% probe ($t=5,92$, $p<0,05$).

În staționar, tulpinile de *P. aeruginosa* s-au dovedit a fi rezistente în 59,79% din probe , iar cele din ambulatoriu în 53,0%, însă această diferență s-a dovedit a fi nesemnificativă statistic ($t=0,96$, $p>0,05$).

Dacă tulpinile de *C. freundii* izolate de la pacienții tratați în staționar au fost rezistente în 47,06%, însă cele izolate de la pacienții tratați ambulatoriu au fost rezistente în 74,10% ($t=3,02$, $p<0,05$), dar numărul de probe a fost mult mai mic la ele.

Tulpinile de *P. mirabilis*, din staționar au manifestat rezistență în 66,20% și sensibilitate în 33,80% probe, iar cele din ambulatoriu în 48,65% și 51,35% respectiv ($t=2,90$, $p<0,05$) (tab. 3.5).

Nivelul de rezistență al tulpinilor de *P. rettgeri* a fost practic același la ambele loturi de pacienți, 84,05% la cei din staționar și 75,0% la cei din ambulatoriu, dar diferența nu a fost veridică statistic ($t=1,05$, $p>0,05$).

Deși tulpinile de *P. vulgaris* au fost rezistente în 48,45% din probe la pacienții tratați în staționar și în 60,0% la cei tratați ambulatoriu, diferența a fost neveridică statistic ($t=1,23$, $p>0,05$).

Nivelul de rezistență a fost destul de înalt la tulpinile de *P. alcalifaciens* izolate de la ambele categorii de pacienți – 93,33% din staționar și 90,90% din ambulatoriu, diferența nu a fost veridică statistic ($t=0,25$, $p>0,05$).

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 (tabelul 3.6).

Tabelul 3.6 Clasificarea tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP în funcție de locația tratamentului (V. Prisacari, E. Leu, 2009)

Locația	Indicele	Sensibile la toate antibioticele	Tulpini rezistente la:			Total
			1-5 antibiotice	6-10 antibiotice	11-32 antibiotice	
Ambulatoriu	abs.	99	539	63	30	731
	%	13,54	73,73	8,61	4,10	100
Staționar	abs.	334	1260	913	702	3209
	%	10,40	39,26	28,45	21,87	100
	Clasificarea tulpinilor	habituale	habituale	potențial-spitalicești	spitalicești	

Astfel că 49,66% din tulpini pot fi clasificate ca habituale, 28,45% ca potențial-spitalicești și 21,87% ca spitalicești.

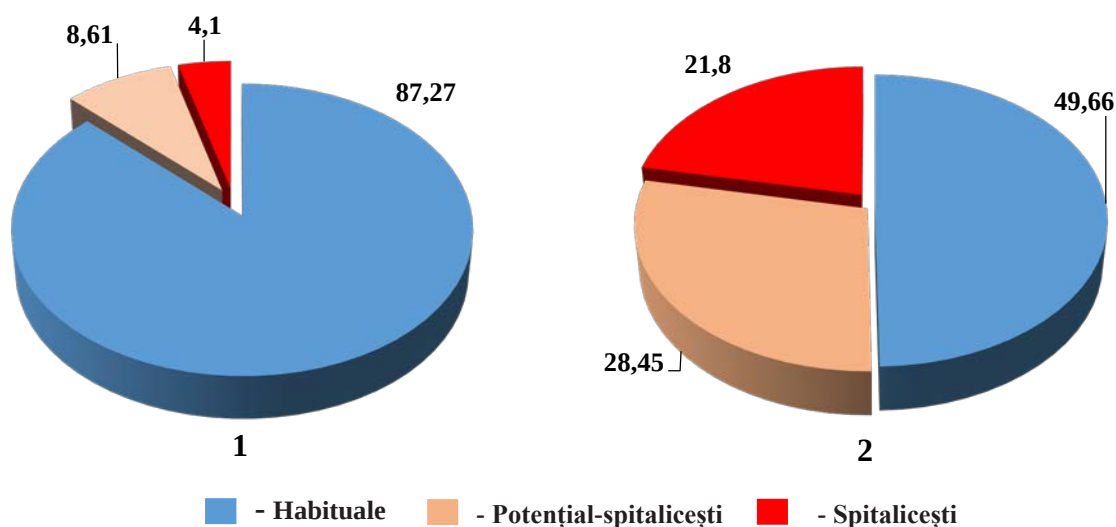


Fig. 3.24. Clasificarea tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP tratați ambulatoriu (1) și în staționar (2)

Spre deosebire, tulpinile izolate de la pacienții tratați ambulatoriu, 73,73% din ele au fost rezistente la 1-5 antibiotice, 8,61% la 6-10 antibiotice și 4,10% la 11-32 antibiotice, iar 13,54% au fost sensibile la toate antibioticele (tabelul 3.6). Spre deosebire de tulpinile izolate de la pacienții tratați ambulatoriu, 87,27% din tulpini pot fi clasificate ca habituale, 8,61% ca potențial spitalicești și doar 4,10% ca spitalicești, ceea ce confirmă faptul că în cadrul staționarului ISPN 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 au prezentat o rezistență mai înaltă față de peniciline în comparație cu cei tratați ambulatoriu – 66,48% și 60,28%, respectiv ($t=2,75$, $p<0,05$). Rezistență mai înaltă au avut și la cefalosporine - 81,05% - la pacienții tratați în staționar și 69,55% la cei tratați ambulatoriu ($t=7,03$, $p<0,05$). Nivelul de rezistență la aminoglicozide și chinolone, a fost mai înalt la microorganismele izolate de la pacienții tratați în staționar, comparativ cu cei tratați ambulatoriu – 39,0% și 41,02%, respectiv, 21,40% și 21,46%, respectiv. La lincomicine, macrolide și glicopeptide, nivelul de rezistență al microorganismelor nu diferă în funcție de originea lor, care a fost de 40,25%, 46,38% și 49,10%, respectiv la pacienții din staționar și 38,80% ($t=0,43$, $p>0,05$), 43,50% ($t=1,31$, $p>0,05$) și 46,40% ($t=0,47$, $p>0,05$), respectiv, la pacienții tratați ambulatoriu.

Tabelul 3.7 Sensibilitatea/rezistența comparativă a tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP din staționar și ambulatoriu, în funcție de grupul antibioticelor

Grupul antibioticelor	Pacienți staționar			Pacienți ambulatoriu		
	Total probe	S	R	Total probe	S	R
		%	% (95% CI)		%	% (95% CI)
Peniciline	2700	33,52	66,48 (64,66-68,26)	564	39,72	60,28 (56,11-64,35)
Beta-lactam+Inhib.	701	61,50	38,50 (34,90-42,23)	217	71,00	29,00 (23,10-35,56)
Cefalosporine I gen.	1925	24,26	75,74 (73,76-77,64)	341	30,80	69,20 (64,01-74,10)
Cefalosporine II gen.	1258	5,80	94,20 (92,75-95,42)	196	12,24	87,76 (82,33-92,00)
Cefalosporine III	1762	23,38	76,62 (74,57-78,57)	326	41,40	58,60 (53,03-64,00)
Cefalosporine IV	269	13,40	86,60 (81,95-90,44)	27	25,90	74,10 (53,72-88,88)
Total Cefalosporine	5214	18,95	81,05 (79,96-82,10)	890	30,45	69,55 (66,41-72,56)
Monobactame	182	2,20	97,80 (94,46-99,40)	6	-	100,0 (54,10-100,0)
Peneme	412	78,88	21,12 (17,27-25,37)	43	79,10	20,90 (10,04-36,04)
Aminoglicozide	4254	61,00	39,00 (37,52-40,48)	640	78,60	21,40 (18,30-24,80)
Chinolone	4522	58,98	41,02 (39,58-42,47)	1137	78,54	21,46 (19,10-23,96)
Lincomicine	1195	59,75	40,25 (37,45-43,10)	268	61,20	38,80 (32,94-44,92)
Macrolide	2665	53,62	46,38 (44,47-48,30)	637	56,50	43,50 (39,60-47,43)
Nitrofurane	71	36,62	63,38 (51,10-74,50)	39	43,60	56,40 (39,62-72,18)
Oxazolidine	42	92,90	7,20 (1,50-19,50)	89	93,30	6,70 (2,51-14,10)
Glicopeptide	405	50,90	49,10 (44,16-54,11)	95	53,70	46,40 (36,02-56,85)
Phenicolis	652	55,10	44,90 (41,10-48,84)	94	81,90	18,10 (10,90-27,37)
Tetraciclina	15	33,30	66,70 (38,38-88,17)	3	-	100,0 (29,24-100,0)
Antifungice	208	37,01	62,98 (56,03-69,55)	204	36,27	63,73 (56,72-70,33)
Total	23238	46,34	53,65 (53,01-54,30)	4926	58,97	41,03 (39,64-42,41)

Atât microorganismele izolate de la pacienții tratați în staționar, cât și la cei tratați ambulatoriu, au avut un nivel de rezistență scăzut la peneme, care a fost de 21,12% și 20,90%, respectiv ($t=0,03$, $p>0,05$). Sensibilitate sporită, aceste microorganisme au manifestat față de oxazolidine - 92,90% la pacienții tratați în staționar și 93,30% la cei tratați în ambulatoriu ($t=0,22$, $p>0,05$).

Așadar, structura etiologică în ISP este mai variată la pacienții cu tratament în staționar - 44 specii de microorganisme, comparativ cu 33 specii izolate de la pacienții tratați ambulatoriu. De asemenea, și antibioticorezistența microorganismelor izolate de la pacienții din staționar este mai pronunțată comparativ cu aceeași la cele comunitare, diferența fiind confirmată statistic ($t=16,33$, $p<0,05$).

3.4. Concluzii la Capitolul 3

1. Implementarea în cadrul laboratorului microbiologic al programului computerizat WHONET ne-a permis de a crea baza de date cu privire la microorganismele identificate, rezistența/sensibilitatea lor la antibiotice. Cu ajutorul funcției BacLink integrată în programul WHONET a fost posibilă importarea și conversia datelor privind microorganismele izolate și nivelul lor de rezistență / sensibilitate la antibiotice, rezultate din analizatorul microbiologic automatizat VITEK 2 Compact.
2. În rezultatul integrării funcțiilor a fost posibilă efectuarea analizei separată a datelor obținute prin sistemul informațional WHONET, cât și analiza combinată a datelor obținute cu metoda clasică și analizatorul automatizat VITEK 2 Compact, dar și analiza comparativă a datelor obținute în perioade diferite pentru a urmări evoluția antibioticorezistenței microbiene în dinamica multianuală.
3. În rezultat s-a constatat că agenții cauzali ai ISP se deosebesc prin polimorfism etiologic și rezistență sporită la antibiotice, cu predominarea microorganismelor gram-pozitive, cu o pondere de 56,78% din total, microorganismele gram-negative constituind – 41,22%. De asemenea am constatat că și structura etiologică a ISP variază în funcție de profilul secției. Un nivel mai înalt de rezistență la antibiotice am înregistrat la microorganismele gram-negative – 61,66%, comparativ cu cele gram-pozitive – 40,25%.
4. S-a constatat, totodată, că la pacienții cu tratament în staționar, structura etiologică în ISP este mai variată - 44 specii de microorganisme, comparativ cu 33 specii izolate de la pacienții tratați ambulatoriu. Antibioticorezistența microorganismelor izolate de la pacienții din staționar este mai pronunțată comparativ cu aceeași la cele comunitare, diferența fiind confirmată statistic ($t=16,33$, $p<0,05$).

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

4.1. Caracteristica 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 IMSP 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 infecțiile septico-purulente (tabelul 4.1, figura 4.1, 4.2).

Microorganismele gram-pozitive identificate cu ajutorul sistemului V2C aparțin la 30 specii, spre deosebire de 19 specii identificate cu metoda disc-difuzimetrică. Cele mai frecvent izolate microorganisme gram-pozitive au fost *S. aureus*, cu o pondere de 14,34% izolate prin metoda clasică și 13,43% izolate cu ajutorul sistemului V2C, urmate de *S. epidermidis* cu 12,33% și 5,20% respectiv, *E. faecalis* – 7,25% și 2,46% respectiv, *S. pyogenes* – 6,73%, *S. haemolyticus* – 2,06% și 2,55% respectiv, *E. faecium* – 1,40% și 0,47%, *S. viridans* (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*) – 1,23% și 0,57% și *Bacillus* sp. – 0,77%. „Alte specii” de microorganisme gram-pozitive izolate au fost: *S. saprophyticus*, *K. rosea*, *Corynebacterium xerosis* și *pseudodiphtheriticum*, cu o pondere de 0,41%, iar cu sistemul V2C, adițional la microorganismele enumerate mai sus, au fost izolate și specii ca *S. lugdunensis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. auricularis*, *S. chromogenes*, *S. intermedius*, *S. dysgalactiae*, *S. pleomorphus*, *S. pneumoniae*, *S. uberis*, *K. kristinae*, *M. luteus*, *R. mucilaginosus*, *A. otitidis*, *Gemella* sp., cu o pondere de 3,22%.

Din microorganismele gram-negative, mai frecvent au fost izolate *P. aeruginosa* – 13,16% cu ajutorul metodei clasice și 15,42% cu sistemul V2C, *E. coli* – 11,05% și 12,02% respectiv, *Acinetobacter* spp. – 8,38% și 9,00% respectiv, *K. pneumoniae* – 6,12% și 8,42% respectiv, *P. mirabilis* – 5,14% și 6,43% respectiv, *E. aerogenes* – 3,70% și 0,66% respectiv, *E. cloacae* – 0,82% și 7,00% respectiv, *P. vulgaris* - 0,57% și 0,76% respectiv, *Serratia* sp.- 0,51% și 0,95% respectiv, *C. freundii* – 0,46% și 1,14% respectiv, și alte specii (tabelul 4.1). „Alte specii” de microorganisme gram-negative izolate cu ajutorul metodei manuale au fost: *Neisseria* sp. (*elongata*, *perflava* și

flavescens), C. braakii, C. diversus, M. catarrhalis, P. stutzeri, Salmonella sp., S. maltophilia, S. thalophilum, A. odorans, P. alcalifaciens, cu pondere de 0,77%.

Tabelul 4.1. Structura etiologică comparativă a infecțiilor septico-purulente testate prin metoda clasică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact

	Microorganismele (specia)	Metoda manuală		VITEK 2 Compact	
		Nr. tulpini	% din total	Nr. tulpini	% din total
Microorganisme gram-pozitive	S. aureus	279	14,34	142	13,43
	S. epidermidis	240	12,33	55	5,20
	S. haemolyticus	40	2,06	27	2,55
	Staphylococcus, coagulase negative	-	-	13	1,23
	S. sciuri	-	-	6	0,57
	S. pyogenes	131	6,73	-	-
	S. viridans	24	1,23	6	0,57
	S. agalactiae	5	0,26	11	1,04
	E. faecalis	141	7,25	26	2,46
	E. faecium	27	1,40	5	0,47
	Enterococcus sp.	-	-	8	0,76
	Bacillus sp.	15	0,77	-	-
	Alte microorg.	8	0,41	34	3,22
	Total microorg. Gram+	910	46,76	333	31,50
Microorganisme gram-negative	Acinetobacter sp.	163	8,38	95	9,00
	P. aeruginosa	256	13,16	163	15,42
	E. coli	215	11,05	127	12,02
	E. aerogenes	72	3,70	7	0,66
	E. cloacae	16	0,82	74	7,00
	K. pneumoniae	119	6,12	89	8,42
	K. oxytoca	4	0,21	17	1,61
	C. freundii	9	0,46	12	1,14
	P. mirabilis	100	5,14	68	6,43
	P. vulgaris	11	0,57	8	0,76
	Serratia sp.	10	0,51	10	0,95
	M. morganii	5	0,26	7	0,66
	Alte microorg.	15	0,77	47	4,45
	Total microorg. Gram-	995	51,13	724	68,50
Fungi	C. albicans	28	1,44	-	-
	C. krusei	5	0,26	-	-
	C. tropicalis	4	9,76	-	-
	C. glabrata	3	0,15	-	-
	C. pseudotropicalis	1	0,05	-	-
	Total fungi	41	2,11	-	-
	Total	1946	100,0	1057	100,0

Grupul „Alte microorganisme” identificate cu ajutorul sistemului V2C, e mult mai variat, și a inclus un număr mai mare de specii ca: E. gergoviae, E. cancerogenus, C. braakii, P. rettgeri,

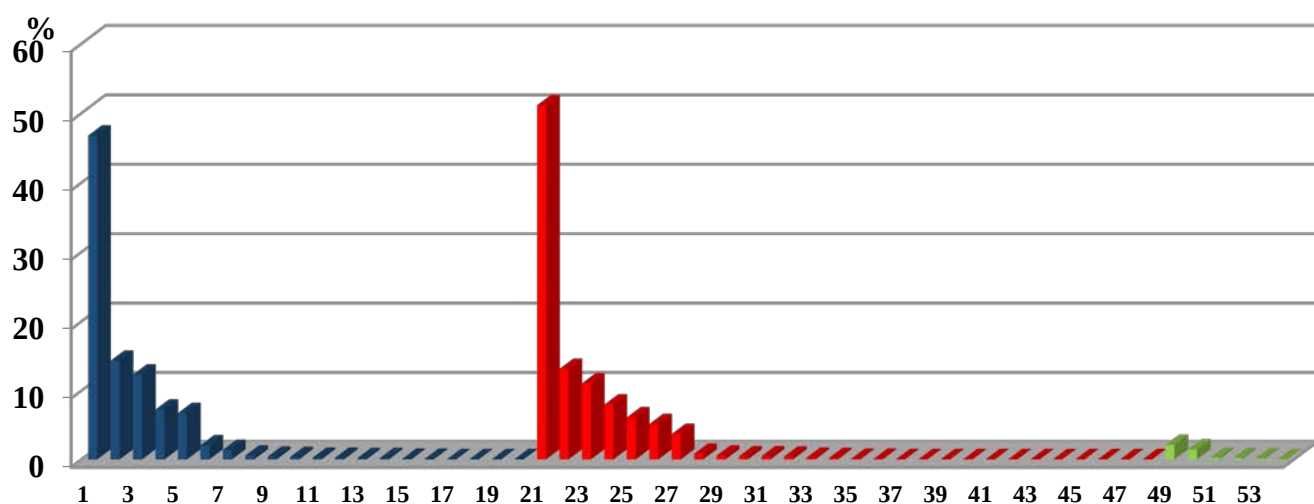


Fig. 4.1. Structura microorganismelor izolate cu ajutorul metodei manuale de la pacienții cu ISP

1) Total microorganisme grampozitive; 2) *S. aureus*; 3) *S. epidermidis*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. pyogenes*; 6) *S. haemolyticus*; 7) *E. faecium*; 8) *S. viridans*; 9) *P. alvei*; 10) *S. mitis*; 11) *S. agalactiae*; 12) *S. mutans*; 13) *B. sphaericus*; 14) *C. pseudodiphtheriticum*; 15) *S. saprophyticus*; 16) *B. megaterium*; 17) *S. salivarius*; 18) *K. rosea*; 19) *Bacillus* sp.; 20) *C. xerosis*; 21) Total microorganisme gramnegative; 22) *P. aeruginosa*; 23) *E. coli*; 24) *Acinetobacter* sp.; 25) *K. pneumoniae*; 26) *P. mirabilis*; 27) *E. aerogenes*; 28) *E. cloacae*; 29) *P. vulgaris*; 30) *C. freundii*; 31) *S. marcescens*; 32) *A. baumannii*; 33) *M. morganii*; 34) *K. oxytoca*; 35) *C. braakii*; 36) *C. diversus*; 37) *M. catarrhalis*; 38) *P. stutzeri*; 39) *S. Enteritidis*; 40) *Salmonella* sp.; 41) *S. fonticola*; 42) *S. maltophilia*; 43) *S. thalophilum*; 44) *N. elongata*; 45) *A. odorans*; 46) *P. alcalifaciens*; 47) *N. perflava*; 48) *N. flavescens*; 49) Fungi; 50) *C. albicans*; 51) *C. krusei*; 52) *C. tropicalis*; 53) *C. glabrata*; 54) *C. pseudotropicalis*.

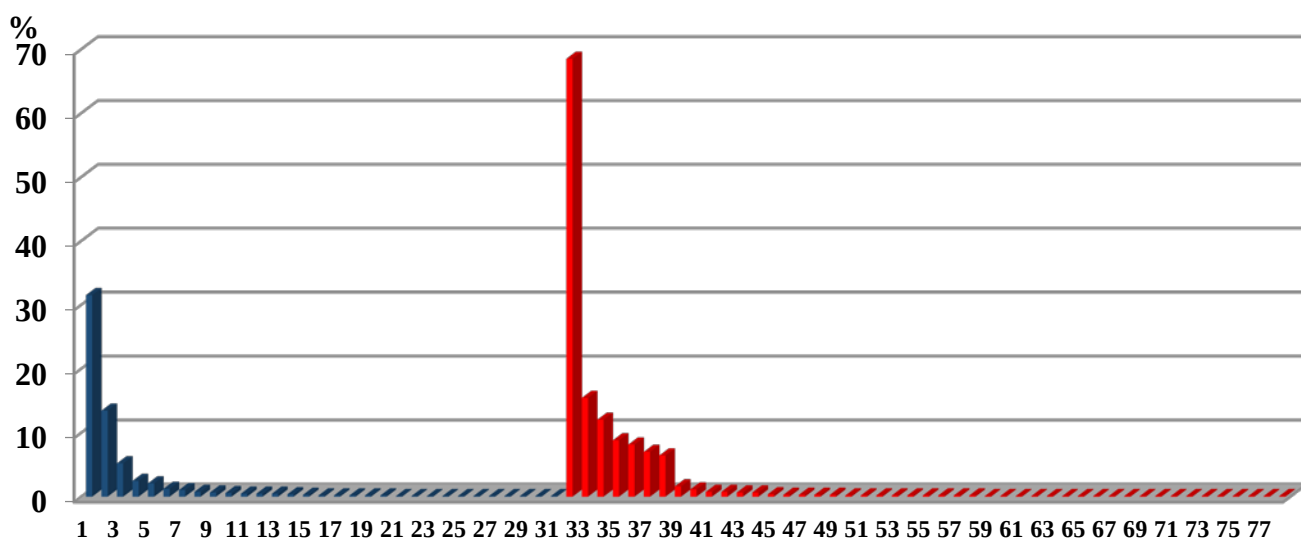


Fig. 4.2. Structura microorganismelor izolate cu ajutorul sistemului V2C de la pacienții cu ISP

1) Total microorganisme grampozitive; 2) *S. aureus*; 3) *S. epidermidis*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. haemolyticus*; 6) *Staphylococcus*, coagulase negative; 7) *S. agalactiae*; 8) *K. kristinae*; 9) *Enterococcus* sp.; 10) *S. mitis*; 11) *S. hominis*; 12) *S. sciuri* ss. *lentus*; 13) *E. faecium*; 14) *S. pneumoniae*; 15) *S. simulans*; 16) *S. intermedius*; 17) *S. lugdunensis*; 18) *S. warneri*; 19) *S. pleomorphus*; 20) *K. rosea*; 21) *S. auricularis*; 22) *S. chromogenes*; 23) *S. saprophyticus*; 24) *S. sciuri* ss. *sciuri*; 25) *S. dysgalactiae*; 26) *S. uberis*; 27) *E. gallinarum*; 28) *M. luteus*; 29) *R. mucilaginosa*; 30) *A. otitidis*; 31) *Gemella* sp.; 32) Total microorganisme gramnegative; 33) *P. aeruginosa*; 34) *E. coli*; 35) *A. baumannii*; 36) *K. pneumoniae*; 37) *E. cloacae*; 38) *P. mirabilis*; 39) *K. oxytoca*; 40) *C. freundii*; 41) *P. vulgaris*; 42) *S. marcescens*; 43) *E. aerogenes*; 44) *M. morganii*; 45) *Salmonella enterica* ss. *diarizonae*; 46) *C. braakii*; 47) *K. pneumoniae* ss. *ozaenae*; 48) *S. paucimobilis*; 49) Non-fermenting gram negative rods; 50) *P. putida*; 51) *P. agglomerans*; 52) *Pantoea* sp.; 53) *R. ornitholytica*; 54) *R. planticola*; 55) *S. fonticola*; 56) *S. putrefaciens*; 57) *S. maltophilia*; 58) *A. hydrophila*; 59) *A. calcoaceticus*; 60) *A. lwoffii*; 61) *E. gergoviae*; 62) *E. cancerogenus*; 63) *M. morganii* ss. *sibonii*; 64) *P. rettgeri*; 65) *P. stuartii*; 66) *P. mendocina*; 67) *P. pseudoalcaligenes*; 68) *S. enterica* ss. *arizonae*; 69) *S. enterica* ss. *enterica*; 70) *S. Enteritidis*; 71) *Salmonella* sp.; 72) *S. alga*; 73) *S. sonnei*; 74) *H. alvei*; 75) *A. caviae*; 76) *A. sobria*; 77) *A. veronii*; 78) *C. luteola*;

P. stuartii, *Pseudomonas* sp. (*mendocina*, *pseudoalcaligenes*, *putida*), *P. agglomerans*, *S. putrefaciens*, *S. sonnei*, *S. paucimobilis*, *S. maltophilia*, *H. alvei*, *Aeromonas* sp. (*caviae*, *hydropila*, *sobria*) *C. luteola*, *M. morgani* ss. *sibonii*, *Pantoea* sp., *S. alga*, *A. veronii*, microorganisme gram-negative nefermentative, cu o pondere de 3,78% (tabelul 4.1).

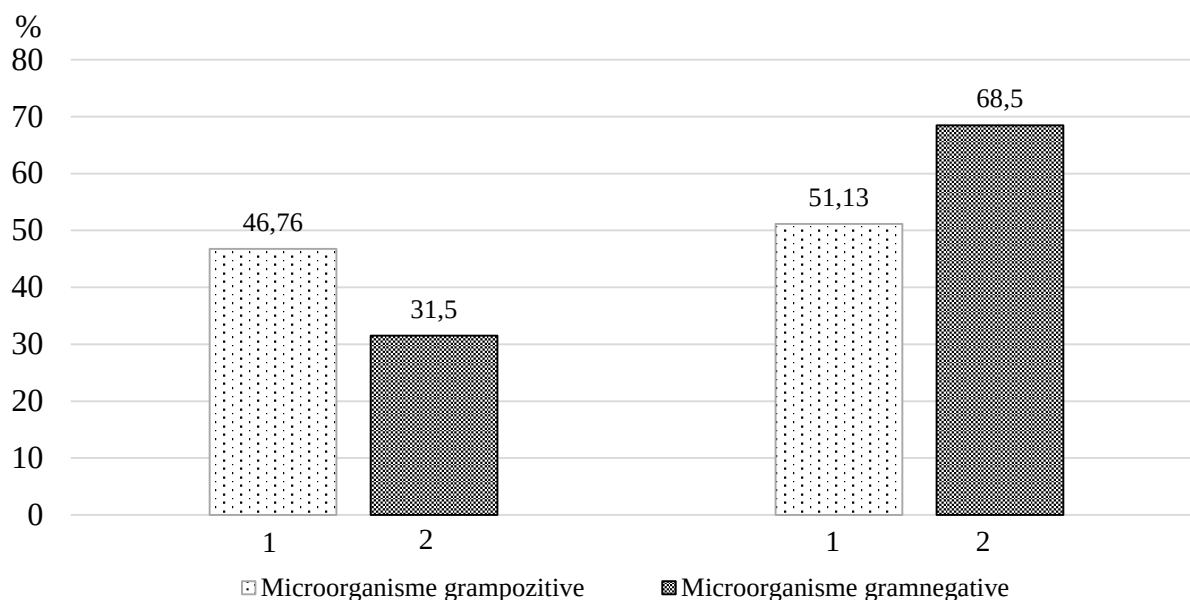


Fig. 4.3. Structura microorganismelor izolate prin metoda manuală (1) și sistemul V2C (2)

Spectrul mai larg de specii de microorganisme, atât gram-pozitive, cât și gram-negative, izolate prin sistemul automatizat, se datorează faptului că sistemul V2C dispune de mai multe teste biochimice, care permit o identificare mult mai corectă și detaliată a microorganismelor, nu doar la nivel de gen, dar și la nivel de specie, ceea ce e uneori e foarte greu de realizat cu metoda clasică.

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. Spre deosebire, 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 ($t=1,71$, $p>0,05$) (tabelul 4.2).

Microorganismele gram-pozitive testate manual au fost sensibile în 66,72% și rezistente în 33,28% și cele testate cu sistemul V2C sensibile în 73,50% și rezistente în 26,50 % ($t=8,29$, $p<0,05$).

Spre deosebire, microorganismele gram-negative au fost mult mai rezistente la antibiotice comparativ cu cele gram-pozitive. Cele testate cu metoda clasică au fost sensibile în 42,33% și

rezistente în 57,67%, iar cu sistemul V2C sensibile în 45,40% și rezistente în 54,60% ($t=4,60$, $p<0,05$) (tabelul 4.2).

Analiza sensibilității /rezistenței la antibiotice la nivel de specii de asemenea a evidențiat o rezistență mai înaltă în cazul microorganismele gram-pozitive testate manual în comparație cu cele testate prin sistemul V2C, cu unele excepții.

Tabelul 4.2. Antibioticosensibilitatea / rezistența comparativă a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP, cu ajutorul metodei clasice și a sistemului V2C

Microorganismele (specia)	Metoda manuală			VITEK 2 Compact		
	Nr. test. la antib.	S	R	Nr. test. la antib.	S	R
		%	% (95% C.I.)		%	% (95% C.I.)
Microorganisme gram-pozitive						
S. aureus	3173	75,13	24,87 (23,4-26,4)	2175	86,20	13,80 (12,4-15,3)
S. epidermidis	2862	58,60	41,40 (39,6-43,2)	838	64,56	35,44 (32,2-38,8)
S. haemolyticus	473	48,20	51,80 (47,2-56,4)	405	58,30	41,70 (36,9-46,7)
Staph. coag. neg.	-	-	-	168	42,86	57,14 (49,3-64,7)
S. sciuri	-	-	-	92	54,40	45,60 (35,2-56,4)
S. pyogenes	1541	88,25	11,75 (10,2-13,5)	-	-	-
S. viridans	284	60,56	39,44 (33,7-45,4)	-	-	-
S. agalactiae	60	90,00	10,00 (3,6-20,5)	86	86,10	13,90 (7,4-23,1)
E. faecalis	1150	40,96	59,04 (56,1-61,9)	289	43,60	56,40 (50,5-62,2)
E. faecium	214	73,36	26,64 (20,8-33,1)	58	43,10	56,90 (43,2-69,8)
Enterococcus sp.	-	-	-	84	64,30	35,70 (25,6-46,7)
Bacillus sp.	96	67,70	32,30 (23,1-42,6)	-	-	-
Alte microorg.	68	76,47	23,53 (14,1-35,4)	182	89,56	15,44 (6,4-15,8)
Total microorg. Gram+	9921	66,72	33,28 (323-34,2)	4377	73,50	26,50 (25,2-27,9)
Microorganisme gram-negative						
Acinetobacter sp.	1919	20,90	79,10 (77,1-80,8)	1326	12,30	87,60 (85,7-89,3)
P. aeruginosa	2353	42,50	57,50 (55,5-59,5)	2601	28,20	71,80 (70,1-73,5)
E. coli	2563	59,77	40,23 (38,3-42,2)	2158	69,60	30,40 (28,4-32,3)
E. aerogenes	778	44,50	55,50 (51,9-59,1)	105	77,14	22,86 (15,2-32,1)
E. cloacae	169	63,30	36,60 (29,4-44,4)	1110	59,10	40,90 (38,0-43,9)
K. pneumoniae	1364	30,80	69,20 (66,7-71,7)	1511	36,70	63,30 (60,8-65,7)
K. oxytoca	46	45,65	54,35 (39,0-69,1)	289	76,80	23,20 (18,4-28,5)
C. freundii	97	65,98	34,02 (24,7-44,3)	180	75,00	25,00 (18,9-32,0)
P. mirabilis	1063	34,34	65,66 (62,7-68,5)	1153	38,90	61,10 (58,2-63,9)
P. vulgaris	111	74,77	25,23 (17,5-34,4)	136	74,26	25,74 (18,6-34,0)
Serratia sp.	109	73,40	26,60 (18,6-35,9)	150	63,30	36,70 (29,0-45,0)
M. morganii	48	75,00	25,00 (13,6-39,6)	119	69,80	30,20 (22,2-39,3)
Alte microorg.	160	68,88	33,12 (25,9-41,0)	520	72,90	27,10 (23,3-31,1)
Total microorg. Gram-	10780	42,33	57,67 (56,7-58,6)	11358	45,40	54,60 (53,7-55,5)
Fungi						
C. albicans	168	63,70	36,30 (29,0-43,7)	-	-	-
C. krusei	30	26,70	73,30 (54,1-87,3)	-	-	-
C. tropicalis	24	62,50	37,50 (18,8-57,3)	-	-	-
C. glabrata	18	38,90	61,10 (35,7-81,6)	-	-	-
C. pseudotropicalis	6	66,70	33,30 (4,3-71,6)	-	-	-
Total fungi	246	57,30	42,70 (36,4-48,9)	-	-	-
Total	20947	54,10	45,90 (45,2-46,6)	15735	53,20	46,80 (46,0-47,6)

Deși numărul de antibiotice față de care au fost testate microorganismele cu metoda manuală este mai mare, numărul de probe de testare la antibiotice diferă semnificativ, pe când cu sistemul VITEK 2 Compact numărul de antibiotice este mai mic, însă majoritatea tulpinilor au fost testate la aceleași set de antibiotice.

Numărul de antibiotice la care au fost testate tulpinile cu ajutorul sistemului V2C e mai mic deoarece acest analizator folosește reguli de interpretare a antibioticogramei, care poate schimba rezultatul din sensibil în intermediar sau rezistent, sau să deducă rezultatul pentru alte antibiotice care nu au fost testate.

Din microorganismele gram-pozitive, s-au evidențiat câteva grupuri, cu particularități specifice privind testarea sensibilității/rezistenței lor la antibiotice: grupul stafilococilor (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. coagulase negative* și *S. sciuri*), grupul streptococilor (*S. pyogenes*, *S. viridans* și *S. agalactiae*) și grupul enterococilor (*E. faecalis*, *E. faecium* și *Enterococcus* sp.).

Din genul *Staphylococcus*, cele mai rezistente tulpini au fost *S. haemolyticus*, urmate de *S. epidermidis* și *S. aureus*. Din genul *Streptococcus*, deși mai rezistente la antibiotice au fost tulpinile de *S. viridans*, urmate de *S. pyogenes* și *S. agalactiae*, un rol mai important în etologia ISP l-au avut tulpinile de *S. pyogenes*.

Pentru determinarea gradului de sensibilitate/rezistență al tulpinilor din genul *Staphylococcus* cu ajutorul sistemului V2C, din grupul penicilinelor au fost incluse penicilina G și oxacilina. Conform regulilor de interpretare a sistemului V2C, tulpinile rezistente la penicilina G sunt considerate ca rezistente la toate peniciline. Tulpinile rezistente la oxacilină, din grupul penicilinelor, și la cefoxitin, din grupul cefalosporinelor, sunt considerate ca rezistente la toate antibioticele β -lactamice.

Astfel că, din tulpinile de *S. aureus* testate cu ajutorul sistemului V2C, 80,30% au fost rezistente față de penicilina G, și 19,0% au fost rezistente față de oxacilină (MRSA) și cefoxitin, respectiv. Spre deosebire, cu metoda manuală la penicilina G au fost testate doar 10 tulpini, toate dovedindu-se rezistente. Din tulpinile testate cu metoda manuală la oxacilină, 24,80% au fost MRSA, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,37$, $p>0,05$). Spre deosebire, aceste tulpini nu au fost testate la cefoxitin, însă au fost testate la alte cefalosporine, nivelul de rezistență fiind de 41,41% (fig. 4.4).

Sistemul V2C a permis și testarea tulpinilor cu privire la prezența enzimei responsabile de rezistență inductibilă la clindamicină, care determină rezistența la macrolidele cu 14C și 15C atomi de carbon, rămânând sensibile doar la macrolidele cu 16C, lincomicine și ketolide, fiind depistate 4 tulpini producătoare de această enzimă. Testarea manuală a tulpinilor pentru prezența acestei

enzime nu a fost efectuată. La 17 tulpini a fost identificat fenotipul MLS_B constitutiv, care este cea mai frecventă formă de rezistență la tulpinile MRSA, ceea ce determină rezistență încrucișată la toate macrolidele cu 14-16 atomi de carbon, lincomicine, ketolide și streptogramine.

La peneme au fost testate un număr mic de tulpini, atât cu metoda manuală, cât și cu sistemul V2C. Dacă din cele 5 tulpini testate cu metoda manuală nu au fost depistate tulpini rezistente, atunci din 15 tulpini testate cu sistemul V2C, 73,30% au fost sensibile iar 26,70% s-au dovedit a fi rezistente.

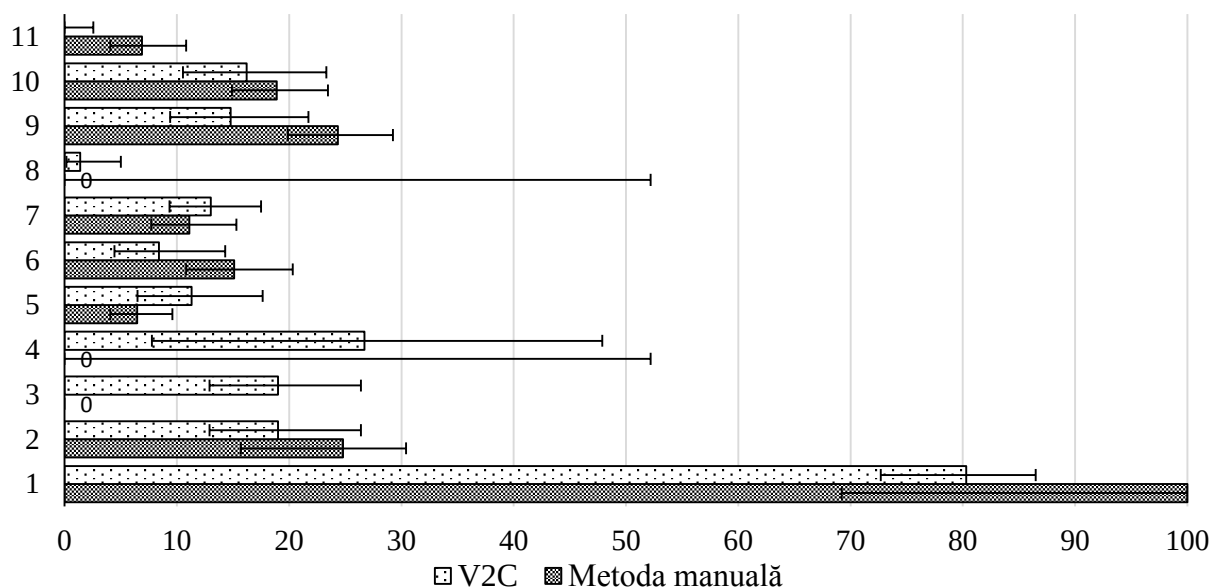


Fig. 4.4. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *S. aureus* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) penicilina G, 2) oxacilină, 3) cefoxitin, 4) peneme, 5) aminoglicozide, 6) ansamicine, 7) chinolone, 8) fosfomicine, 9) lincomicine, 10) macrolide, 11) vancomicină.

Rezistența tulpinilor de *S. aureus* la linezolid, glicopeptide și tigeciclină este extrem de rară, toate tulpinile testate cu sistemul V2C față de aceste antibiotice au fost sensibile. Spre deosebire, din tulpinile testate cu metoda manuală față de glicopeptide, 6,90% au fost rezistente, astfel că aceste tulpini este necesar de a le testa pentru a determina concentrația minimă inhibitoare (CMI), pentru confirmarea suspiciunii. Cu sistemul V2C au fost identificate 3 tulpini hVISA, care se asociază cu o evoluție nefavorabilă, în special în infecțiile severe.

Tulpinile testate față de aminoglicozide, chinolone și macrolide au avut practic același nivel de rezistență, indiferent de metoda utilizată, fiind de 6,45% cu metoda manuală și 11,30% cu sistemul V2C ($t=1,63$, $p>0,05$), 11,11% și 13,03% respectiv ($t=0,70$, $p>0,05$), 18,90% și 16,20% respectiv ($t=0,72$, $p>0,05$), diferențele nefiind veridice statistic (figura 4.4).

O altă diferență s-a constatat privitor la rezistența tulpinilor de *S. aureus* față de lincomicine, dacă cele testate cu metoda manuală au manifestat sensibilitate în 75,66% și rezistență

în 24,34%, atunci cele testate cu sistemul V2C au fost sensibile în 85,2% și rezistente în 14,8% ($t=2,52$, $p<0,05$).

Sensibilitate mai redusă și rezistență mai înaltă s-a depistat la tulpinile de *S. epidermidis*. Aceste tulpini au fost testate în același mod ca și cele de *S. aureus*. Față de penicilina G, 87,00% din tulpinile testate cu sistemul V2C au fost rezistente, însă cu metoda manuală au fost testate doar 3 tulpini la acest antibiotic, toate dovedindu-se rezistente. La oxacilină și cefoxitin, au fost rezistente câte 60,0% din tulpinile testate cu sistemul V2C. Dar spre deosebire, 48,30% din tulpinile testate cu metoda manuală au fost rezistente la oxacilină, însă diferența nu e veridică statistic ($t=1,58$, $p>0,05$). Altă deosebire este că cu metoda manuală aceste tulpini au fost testate la cefalosporine din toate generațiile, cu un nivel de rezistență de 57,57% (figura 4.5).

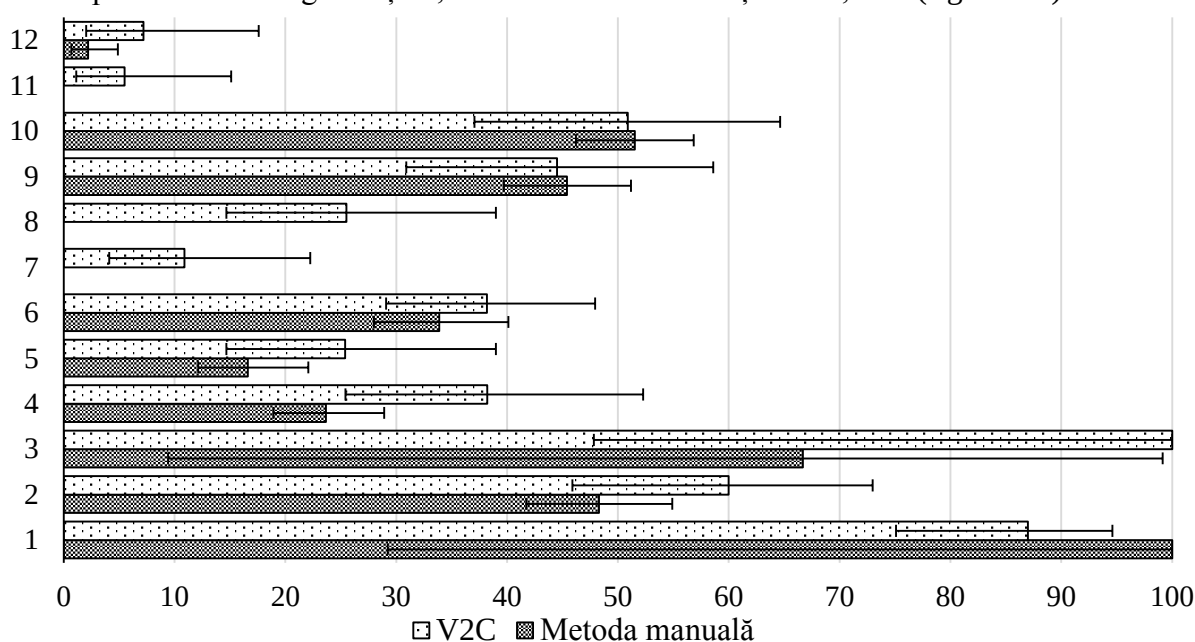


Fig. 4.5. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *S. epidermidis* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) penicilina G; 2) oxacilină; 3) peneme; 4) aminoglicozide, 5) ansamicine; 6) chinolone; 7) antifolați; 8) fosfomicine, 9) lincomicine, 10) macrolide, 11) oxazolidine; 12) vancomicină.

Spre deosebire de tulpinile de *S. aureus*, cele de *S. epidermidis* au fost mai rezistente la macrolide și lincomicine, care a fost de 51,54% și 45,50% respectiv, cu metoda manuală, iar cu sistemul V2C a fost de 50,90% ($t=0,08$, $p>0,05$) și 44,50% ($t=0,12$, $p>0,05$), diferențele însă nefiind veridice statistic. Rezistența înaltă la aceste grupe se datorează prezenței enzimelor responsabile de rezistență inductibilă la clindamicină și a fenotipului MLS_B constitutiv, care au fost depistate la 10 și respectiv 12 tulpini testate cu sistemul V2C.

O rezistență mai mică și sensibilitate mai mare s-a înregistrat la grupele de antibiotice ca aminoglicozide, ansamicine și chinolone. Dacă la aminoglicozide nivelul de rezistență e mai înalt la tulpinile testate cu metoda automată – 38,20%, comparativ cu metoda manuală – 23,65%

($t=2,07$, $p<0,05$), atunci nivelul de rezistență la ansamicine și chinolone nu diferă în funcție de metoda utilizată – 16,60% și 33,87% respectiv, cu sistemul V2C și 25,40% ($t=1,38$, $p>0,05$) și 38,18% ($t=0,60$, $p>0,05$) respectiv, cu metoda automatizată, diferența nefiind veridică statistic. La antifolați, fosfomicine și oxazolidine, tulpinile de *S. epidermidis* au fost testate doar cu analizatorul microbiologic, cu o sensibilitate sporită – 89,10%, 74,50% și 94,50% respectiv, și o rezistență scăzută la aceste grupe de antibiotice.

Spre deosebire de grupele enumerate mai sus, la glicopeptide, tulpinile de *S. epidermidis* au manifestat o sensibilitate sporită și o rezistență scăzută, atât cu metoda manuală – 97,90% sensibilitate și 2,20% rezistență, cât și cu metoda automatizată – 92,73% sensibilitate și 7,27% rezistență, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,91$, $p>0,05$) (figura 4.5).

Tulpinile de *S. haemolyticus* s-au evidențiat prin faptul că au fost cele mai rezistente din genul *Staphylococcus*. Rezistență sporită și sensibilitate scăzută aceste tulpini au manifestat în special față de peniciline, cefalosporine, chinolone, macrolide și lincomicine iar sensibilitate sporită și rezistență scăzută față de aminoglicozide, ansamicine, antifolați, fosfomicine, oxazolidine și tetracicline (figura 4.6).

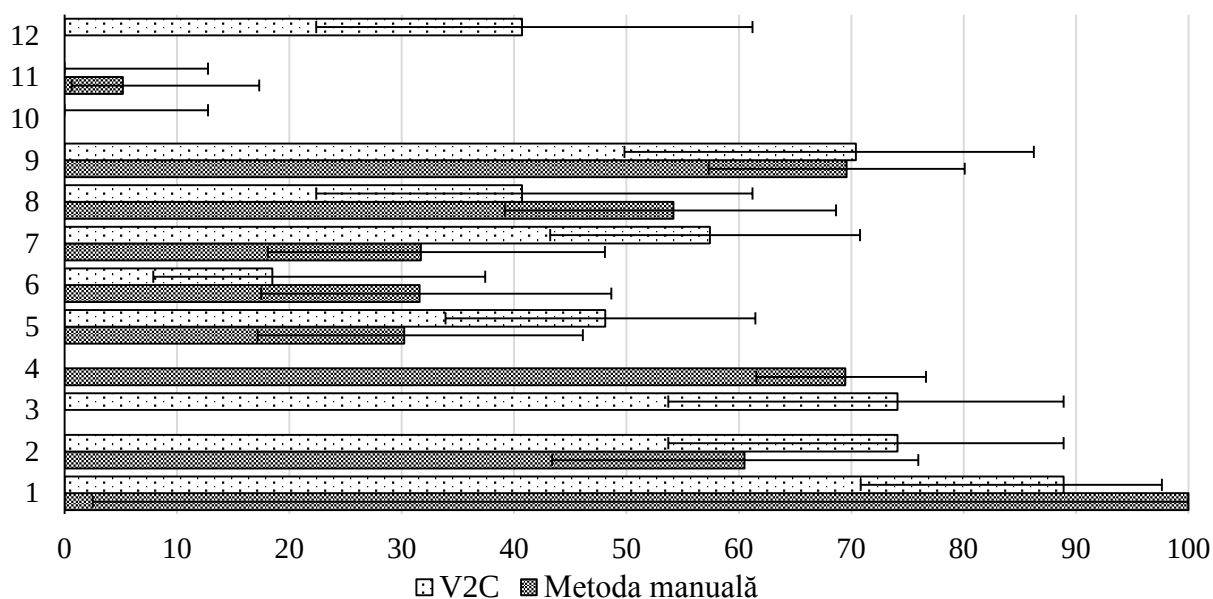


Fig. 4.6. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *S. haemolyticus* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) penicilina G; 2) oxacilină; 3) cefoxitin; 4) total cefalosporine; 5) aminoglicozide; 6) ansamicine; 7) chinolone; 8) lincomicine; 9) macrolide, 10) oxazolidine; 11) vancomicină; 12) tetracicline

Tulpinile testate cu sistemul V2C la penicilina G au avut un nivel de rezistență foarte înalt – 88,90%, însă cu metoda manuală a fost testată doar 1 tulpină, care s-a dovedit a fi rezistentă. De asemenea și la oxacilină nivelul de rezistență este foarte înalt, atât la tulpinile testate cu sistemul V2C (74,10%), cât și cu metoda manuală (60,50%), diferența nefiind veridică statistic ($t=1,16$, $p>0,05$). Față de cefoxitin, 74,10% din tulpinile testate cu sistemul V2C au fost rezistente, pe când

cu metoda manuală au fost testate la cefalosporinele din toate generațiile, cu un nivel de rezistență destul de înalt – 69,48%.

Dacă nivelul de rezistență la chinolone a fost înalt (57,41%) la tulpinile testate cu sistemul V2C, atunci cele testate prin metoda manuală s-au dovedit a fi rezistente în doar 31,71% din probe ($t=2,60$, $p<0,05$). Față de aminoglicozide, nivelul de rezistență nu diferă în funcție de metoda folosită pentru testare: 48,10% cu sistemul V2C și 30,23% cu metoda manuală, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,48$, $p>0,05$). Rezistență înaltă față de macrolide și lincomicine s-a înregistrat atât la tulpinile testate cu sistemul V2C – 70,40% și 40,70% respectiv, cât și la cele testate cu metoda manuală – 69,57% ($t=0,07$, $p>0,05$) și 54,17% ($t=1,12$, $p>0,05$) respectiv, diferențele nefiind veridice statistic. Cu ajutorul sistemului V2C, au fost depistate 6 tulpini producătoare de enzima responsabilă de rezistență inductibilă la clindamicină și 5 tulpini cu fenotipului MLS_B constitutiv, ceea ce conferă acestor tulpini o rezistență crescută față de macrolide și lincomicine (figura 4.6).

Sensibilitatea/rezistența tulpinilor de *S. pyogenes* și *S. viridans* a fost apreciată doar cu metoda manuală. Aceste tulpini au manifestat o sensibilitate crescută și rezistență scăzută față de majoritatea grupelor de antibiotice.

Tulpinile de *S. sciuri* și grupul *Staphylococcus coagulase negative* (SCN), au fost testate doar cu sistemului V2C. Deși numărul de tulpini izolate și testate e mic, ele s-au dovedit a fi destul de rezistente la antibiotice. Astfel că tulpinile de *S. sciuri* au fost mai rezistente în special la peniciline (81,82%), macrolide (83,30%), tetracicline (71,43%) iar grupul SCN a avut o rezistență mai înaltă la peniciline (77,27%), cefoxitin – 63,60%, fosfomicine (80,0%) și lincomicine (72,70%).

Din genul *Enterococcus*, mai rezistente la antibiotice s-au dovedit a fi tulpinile de *E. faecalis*, urmate de *E. faecium* și *Enterococcus* sp. Spre deosebire de alte microorganisme gram-pozitive, tulpinile din genul *Enterococcus* au fost rezistente la majoritatea antibioticelor, însă au fost observate și diferențe de la o specie la alta.

Tulpinile de *E. faecalis* și *E. faecium* sunt agenți patogeni importanți ai ISPN și sunt în mod natural rezistente la o serie de antibiotice. Dacă nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. faecalis* testate cu sistemul V2C față de ampicilină este foarte mic (3,8%), atunci din 9 tulpini testate cu metoda manuală – 88,90% au fost rezistente. Însă conform datelor CDC și ECDC rezistența acestor tulpini la ampicilină este foarte rar întâlnită, astfel că rezultatul obținut cu metoda manuală nu este real, cauza putând fi o eroare de identificare a microorganismelor sau de testare a sensibilității/rezistenței, deoarece rezistența la ampicilină este caracteristică îndeosebi pentru tulpinile de *E. faecium*.

Enterococii posedă în mod natural o rezistență de nivel scăzut față de aminoglicozide (la doze utilizate clinic) astfel că această grupă de antibiotice poate fi folosită în tratament doar în combinație cu antibiotice inhibitoare a peretelui celular (peniciline sau glicopeptide). Sinergia cu β -lactaminele nu este păstrată în cazul unei rezistențe de nivel înalt la aminoglicozide. O deosebire esențială față de metoda manuală este că cu sistemul V2C, tulpinile de *E. faecalis* au fost testate cu privire la rezistența de nivel înalt la gentamicină (Gentamicin-High Level) și streptomicină (Streptomycin-High Level), care a fost de 88,50% și 76,90% respectiv. Deși din tulpinile testate cu metoda manuală la aminoglicozide, 65,52% dintre care au fost rezistente, această cifră nu este informativă din cauza mecanismului de rezistență descris mai sus (figura 4.7).

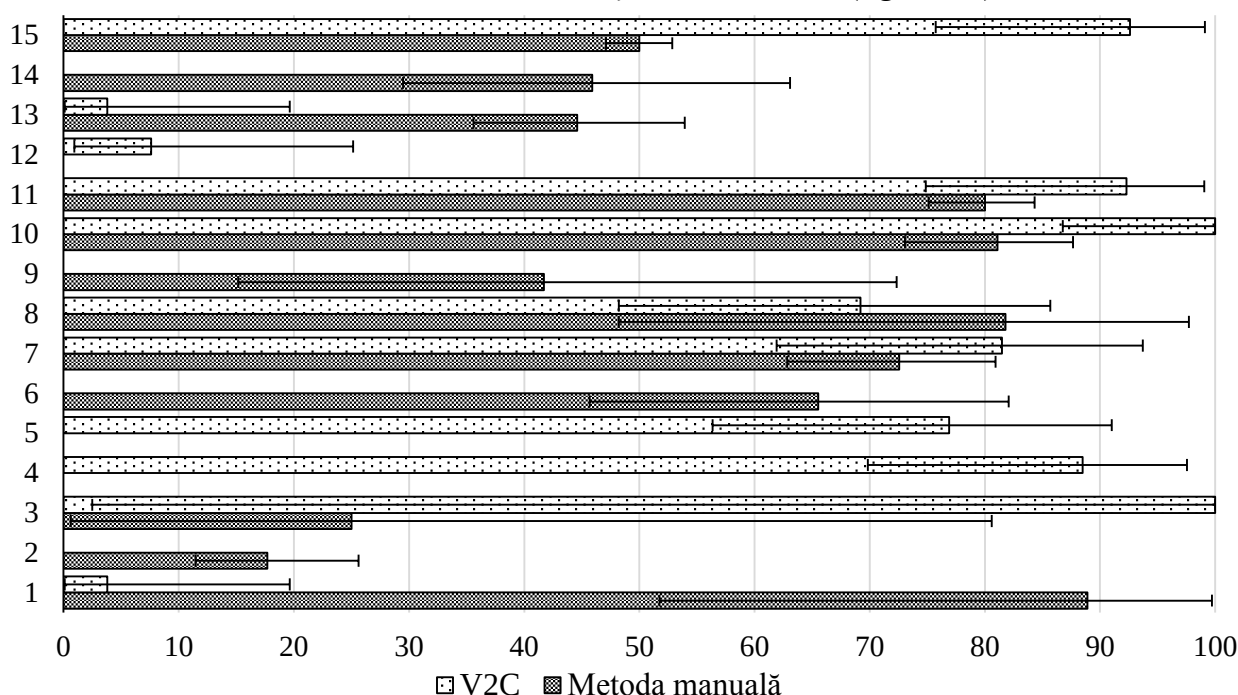


Fig. 4.7. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. faecalis* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) ampicilină; 2) beta-lactam+inhibitor; 3) imipinem; 4) gentamicin-high level; 5) streptomicin-high level; 6) aminoglicozide; 7) chinolone; 8) antifolați; 9) fosfomicine; 10) lincomicine; 11) macrolide; 12) oxazolidine; 13) vancomicină; 14) phenicols; 15) tetraciline

Atât tulpinile testate prin metoda clasică, cât și cele testate cu ajutorul sistemului V2C au manifestat o rezistență înaltă la chinolone: 72,55% și 81,48%, respectiv, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,01$, $p>0,05$). De asemenea și la antifolați, lincomicine și macrolide, nivelurile de rezistență au fost destul de înalte, variind de la 69,0% până la 100,0% (figura 4.7).

Și la glicopeptide, tulpinile testate cu metoda manuală au fost mai rezistente (44,60%), comparativ cu cele testate cu sistemul V2C – doar 1,92% ($t=8,70$, $p<0,05$). Conform datelor CDC și ECDC, cel mai frecvent rezistența la glicopeptide se întâlnește la tulpinile de *E. faecium*, iar la tulpinile de *E. faecalis* este mult mai rar întâlnită, astfel că rezultatul obținut cu metoda manuală nu este veridic și poate reprezenta o eroare de identificare sau de testare a sensibilității/rezistenței.

Tulpinile de *E. faecium* au fost testate în același mod ca și cele de *E. faecalis*, însă prezintă unele deosebiri privind nivelul de sensibilitate/rezistență față de cele mai importante antibiotice.

În special la ampicilină rezistența este foarte înaltă (100,0%) la tulpinile testate cu sistemul V2C, dar cu metoda manuală nu a fost utilizat acest antibiotic.

O deosebire esențială față de metoda manuală este că cu sistemul V2C a fost testat sinergismul aminoglicozidelor cu β -lactaminele sau glicopeptide, astfel că 90,0% din cazuri, ele s-au dovedit a nu fi sinergice cu aceste grupe de antibiotice, date care sunt în concordanță cu rapoartele CDC și ECDC. Deși tulpinile testate cu metoda manuală la aminoglicozide au fost sensibile în 80,0% și rezistente în doar 20,0% din probe, aceste date nu sunt relevante din cauza mecanismului de rezistență la aminoglicozide descris mai sus.

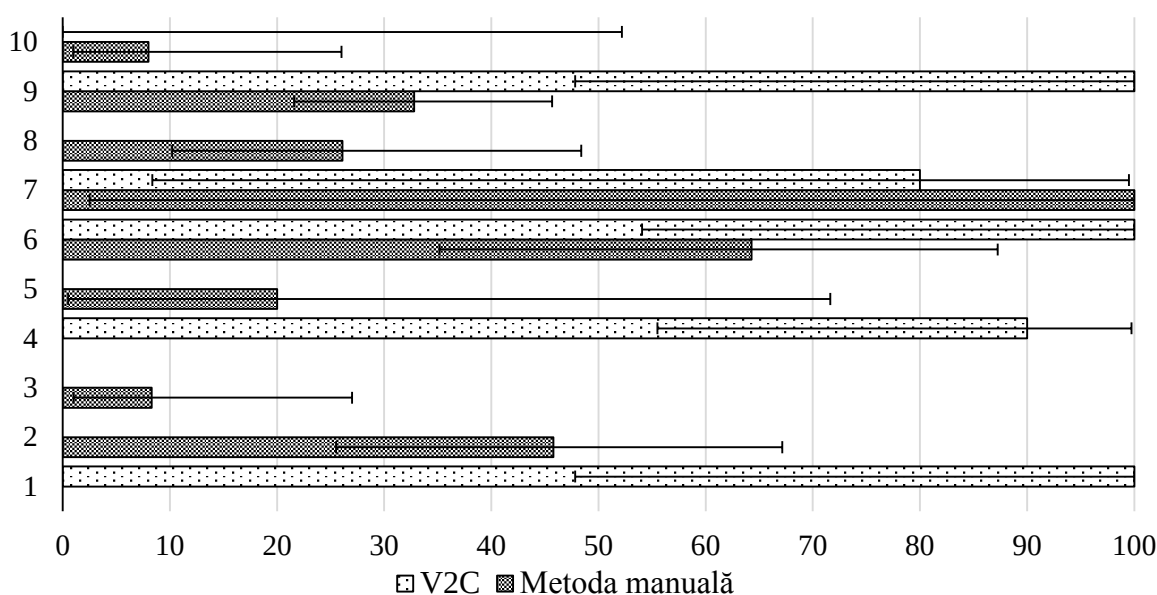


Fig. 4.8. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. faecium* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) ampicilină; 2) penicilina g; 3) beta-lactam+inhibitor; 4) aminoglicozide high level; 5) aminoglicozide; 6) chinolone; 7) clindamicină; 8) lincomicină; 9) macrolide; 10) vancomicină;

Atât tulpinile testate cu metoda manuală, cât și cele testate prin sistemul V2C au manifestat o rezistență înaltă față de chinolone: 64,20% și 100,0%, respectiv ($t=2,68$, $p<0,05$). Dacă cu sistemul V2C nu au fost depistate tulpini rezistente la vancomicină, atunci cu metoda manuală au fost depistate doar 2 tulpini rezistente, valoare care se încadrează în limitele valorilor din raportul ECDC privind antibioticorezistența microbiană (figura 4.8).

Doar cu sistemul V2C au fost testate 8 tulpini de *Enterococcus sp.* care au fost testate în același mod ca și tulpinile de *E. faecalis* și *E. faecium*, însă au fost observate unele deosebiri privind nivelul de sensibilitate/rezistență la antibiotice. Astfel că la ampicilină au fost rezistente doar 37,50% din tulpini spre deosebire de celelalte tulpini din genul *Enterococcus* descrise mai

sus, iar 71,43% din ele și-au păstrat sinergismul aminoglicozidelor cu β -lactamine sau glicopeptide. Altă deosebire esențială este că la vancomicină 28,60% din tulpini au fost rezistente.

Comparativ cu microorganismele gram-pozitive, cele gram-negative s-au dovedit a fi mai rezistente la antibiotice, atât cele testate cu metoda manuală, cât și cele testate cu sistemul V2C. Rezistență înaltă la antibiotice au manifestat în special microorganismele nefermentative (*Acinetobacter* sp. și *P. aeruginosa*), dar și microorganisme din familia Enterobacteriaceae, în special așa specii ca: *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. aerogenes* și *E. coli*.

De exemplu, tulpinile de *Acinetobacter* sp. s-au evidențiat prin faptul că au avut un nivel de rezistență foarte înalt la majoritatea grupelor de antibiotice. Un nivel înalt de rezistență s-a înregistrat față de cele mai des utilizate antibiotice în practica medicală, ca peniciline și cefalosporinele, care a fost aproape de 100,0% (figura 4.9). Însă și față de alte grupe de antibiotice, aceste tulpini au manifestat o rezistență înaltă și sensibilitate scăzută, cu puține opțiuni pentru tratament. Spre exemplu, din aminoglicozide, doar la tobramicină tulpinile date au manifestat o rezistență mai scăzută în comparație cu restul antibioticelor din această grupă. Astfel dacă la gentamicină, nivelul de rezistență este de peste 90,0%, atunci la tobramicină a fost de 61,90% cu metoda manuală și 54,40% cu sistemul V2C ($t=1,10$, $p>0,05$). De asemenea și față de chinolone aceste tulpini au manifestat o rezistență crescută, în special la ciprofloxacină și levofloxacină, care

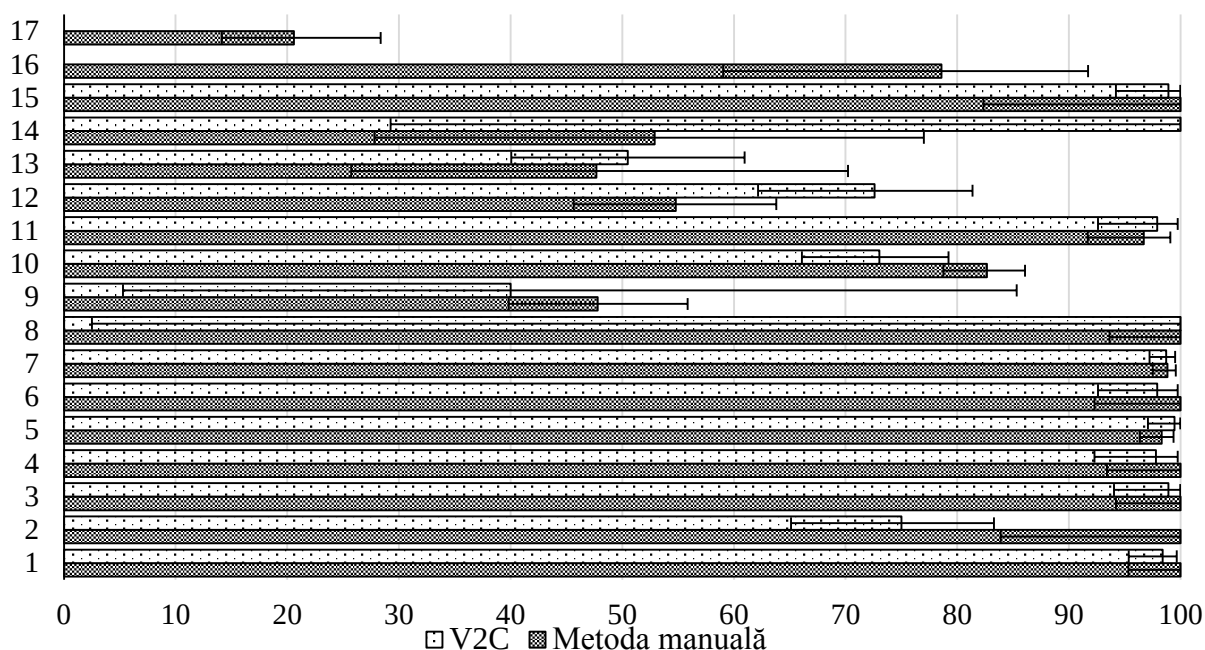


Fig. 4.9. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *Acinetobacter* spp. testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

- 1) peniciline; 2) beta-lactam+inhibitor; 3) cefazolină; 4) cefalosporine II gen.; 5) cefalosporine III gen.; 6) cefalosporine IV gen.; 7) cefalosporine total; 8) monobactame; 9) peneme; 10) aminoglicozide; 11) ciprofloxacină; 12) levofloxacină; 13) antifolați; 14) fosfomicine; 15) nitrofurane; 16) phenicols; 17) tetracicline

a fost de 96,70% și 54,80%, respectiv, la tulpinile testate cu metoda manuală și de 97,90% și 72,60%, respectiv, cu sistemul V2C. Singurele antibiotice care mai pot fi utilizate pentru tratamentul ISP provocate de *Acinetobacter* spp. sunt penemele, la care au fost rezistente 47,80% din tulpinile testate cu metoda manuală și 40,0% cu sistemul V2C ($t=0,31$, $p>0,05$).

Și tulpinile de *P. aeruginosa* s-au evidențiat printr-o rezistență sporită la majoritatea grupelor de antibiotice, atât cele testate cu metoda manuală, cât și cele testate cu sistemul V2C. Din grupul penicilinelor, sistemul V2C a utilizat ampicilina și piperacilina, nivel de rezistență fiind foarte înalt – 99,40% și 63,30%, respectiv. Însă, spre deosebire, cu metoda manuală, tulpinile au fost testate la ticarcilină, nivelul de rezistență fiind de asemenea foarte înalt – 71,60% (figura 4.10).

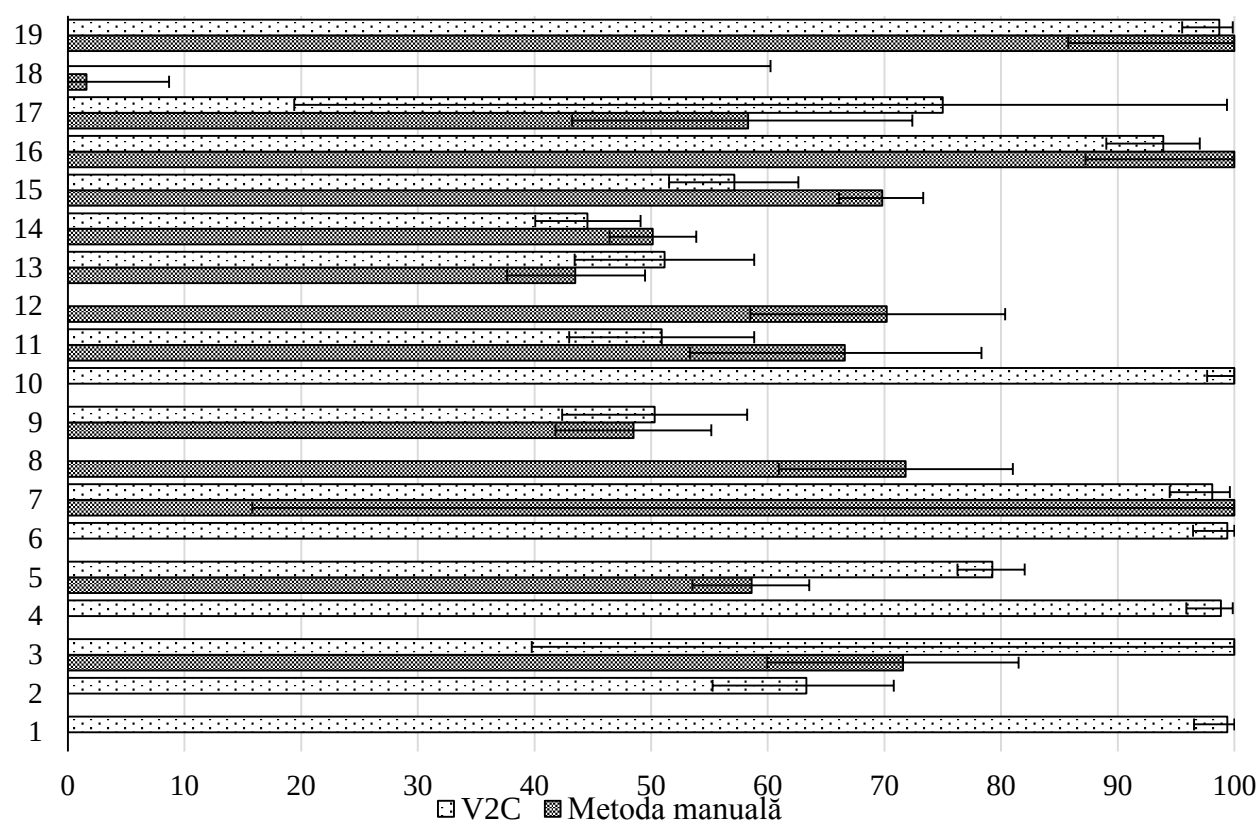


Fig. 4.10. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *P. aeruginosa* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) ampicilină; 2) piperacilină; 3) ticarcilină; 4) beta-lactam+inhibitor; 5) cefalosporine total; 6) cefazolină; 7) cefoxitin; 8) cefoperazone; 9) ceftazidime; 10) cefaclor; 10) ceftriaxone; 11) cefalosporine IV gen.; 12) monobactame; 13) peneme; 14) aminoglicozide; 15) chinolone; 16) antifolați; 17) fosfomicine; 18) lipopeptide; 19) nitrofurane;

La beta-lactam+inhibitor, tulpinile au fost testate doar cu sistemul V2C, majoritatea tulpinilor dovedindu-se a fi rezistente – 98,84%. Un nivel de rezistență înalt s-a înregistrat și la cefalosporine, în special la tulpinile testate cu sistemul V2C (79,25%), comparativ cu metoda manuală (58,61%). Din grupul cefalosporinelor, cea mai înaltă rezistență la tulpinile testate cu sistemul V2C, s-a înregistrat la cefazolină (generația I-a) - 99,40% și cefoxitin (generația a II-a)

– 98,10%. Spre deosebire, cu metoda manuală, din cefalosporinele de generația a I-a a fost utilizată doar cefalexina, la care a fost testată doar 1 tulpină, iar din cele de generația a II-a, tulpinile au fost testate preponderent la cefoperazone, nivelul de rezistență fiind de 71,80%. Spre deosebire, la ceftazidime (cefalosporine de generația a III-ea), au fost rezistente doar 50,30% din tulpinile testate cu sistemul V2C și 48,50% din cele testate cu metoda manuală. La cefepimă (cefalosporine generația a IV-a) au fost rezistente 66,60% din tulpinile testate cu metoda manuală și 50,90% din cele testate cu sistemul V2C ($t=2,16$, $p<0,05$).

Spre deosebire de alte tulpini din familia Enterobacteriaceae, tulpinile de *P. aeruginosa* au avut un nivel înalt de rezistență la peneme – 51,16% cu sistemul V2C și 43,50% cu metoda manuală, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,60$, $p>0,05$) (figura 4.10). Și la aminoglicozide, chinolone, aceste tulpini au avut o rezistență crescută, atât cele testate cu metoda manuală - 50,14% și 69,80%, respectiv, cât și cu sistemul V2C – 44,54% și 57,14%, respectiv. Astfel că nivelul de rezistență înalt al tulpinilor studiate la aceste antibiotice limitează drastic opțiunile terapeutice.

Tulpinile de *E. coli* au manifestat o rezistență mai înaltă față de aminopeniciline, peniciline și beta-lactam+inhibitor. La aminopeniciline, tulpinile date au manifestat cea mai înaltă rezistență, cu metoda manuală au fost de 74,47%, iar cu sistemul V2C de 59,90% ($t=2,32$, $p<0,05$). Din grupul beta-lactam+inhibitor, tulpinile testate manual au manifest o rezistență înaltă la amoxicilină/clavulanic acid, care a fost de 62,30% din probe, iar cele testate cu sistemul V2C au avut un nivel de rezistență mai înalt la ampicilină/sulbactam – 55,20% (figura 4.11).

Spre deosebire, cu sistemul V2C, a fost testată prezența ESBL, care au fost prezente la 37,30% din tulpinile testate. Aceste enzime inactivează majoritatea penicinelor și cefalosporinelor, preparate care sunt utilizate pe larg în practica medicală, situație ce impune utilizarea altor antibiotice, așa ca penemele, grupă la care microorganismele au manifestat o sensibilitate crescută și rezistență scăzută. Microorganismele testate cu sistemul V2C s-au dovedit a fi mult mai sensibile la peneme (97,25%) în comparație cu cele testate cu metoda manuală (82,84%). Conform datelor ECDC, nivelul de rezistență la peneme este foarte jos, astfel că nivelul de rezistență obținut cu metoda manuală este mult prea mare, ceea ce poate indica o eroare de testare.

La cefalosporine, tulpinile de *E. coli* au manifestat o rezistență moderată. Microorganismele testate prin metoda clasică s-au dovedit a fi rezistente în 43,87%, iar însă cele testate prin sistemul automatizat V2C numai în 27,78% din probe.

O rezistență moderată aceste tulpini au manifestat și față de alte grupe importante de antibiotice, așa ca aminoglicozide, chinolone, antifolați, tetraciline, ș.a.

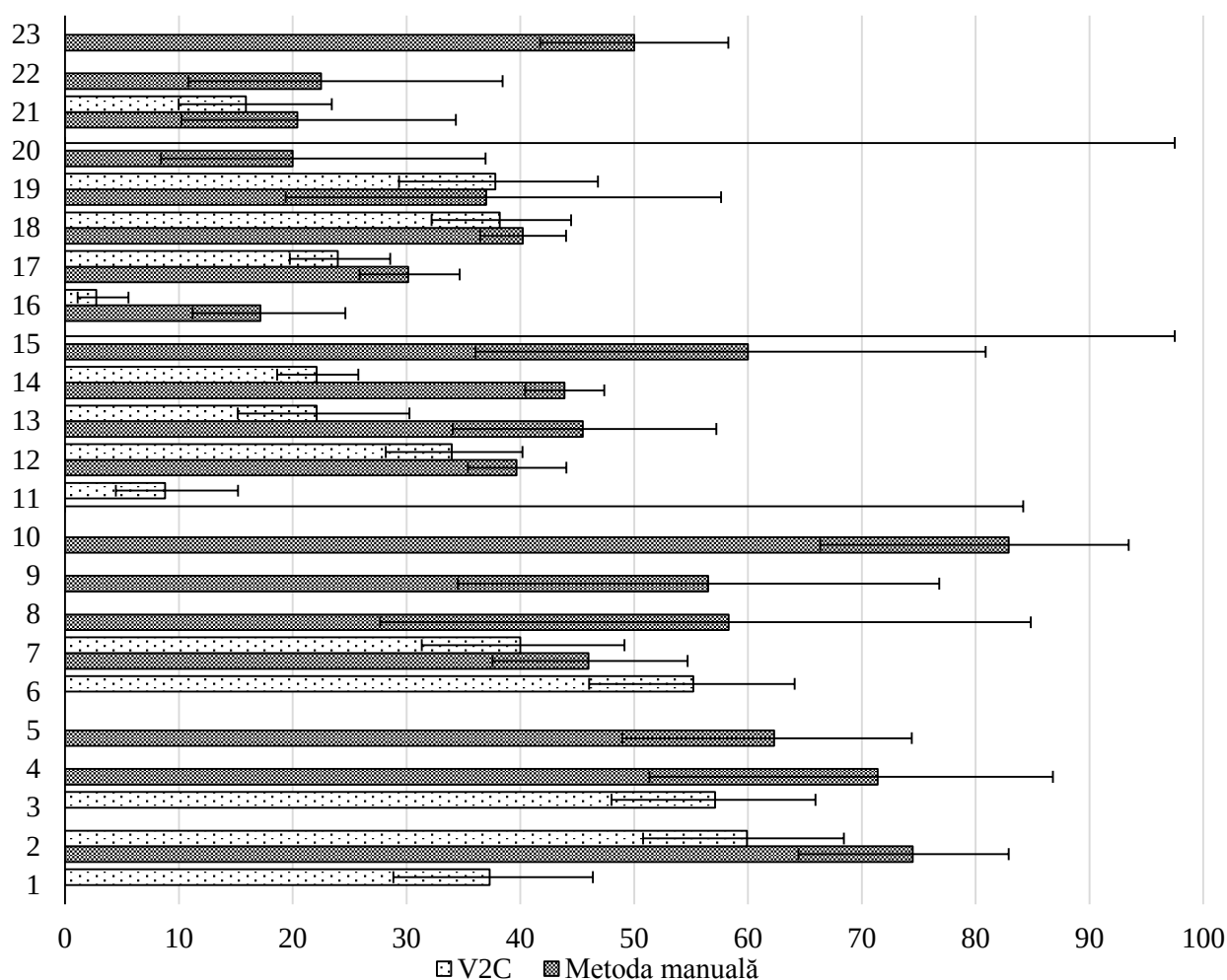


Fig. 4.11. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. coli* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

- 1) ESBL; 2) aminopeniciline; 3) piperacilină; 4) ticarcilină; 5) amoxicilină/clavulanic acid; 6) ampicilină/sulbactam; 7) cefazolină; 8) cefoperazone; 9) cefuroxime; 10) cefaclor; 11) cefoxitin; 12) cefalosporine III gen.; 13) cefalosporine IV gen.; 14) cefalosporine total; 15) monobactame; 16) peneme; 17) aminoglicozide; 18) chinolone; 19) antifolați; 20) fosfomicine; 21) nitrofurane; 22) phenicols; 23) tetraciline

Tulpinile din genul *Enterobacter* (*E. cloacae* și *E. aerogenes*) s-au evidențiat prin faptul că au avut un nivel de rezistență mai înalt la peniciline și cefalosporine și o rezistență moderată față de chinolone, peneme și aminoglicozide.

Cea mai înaltă rezistență, tulpinile de *E. cloacae* au manifestat față de peniciline – 66,7% cu metoda manuală și 53,4% cu sistemul V2C ($t=0,39$, $p>0,05$), dar și la cefalosporine, în special la cele de generația a I-a și a II. Rezistență mai mică, aceste tulpini au manifestat față de aminoglicozide – 31,71% cu metoda manuală și 28,51% cu sistemul V2C ($t=0,40$, $p>0,05$), chinolone – 21,62% cu metoda manuală și 12,16% cu sistemul V2C ($t=1,30$, $p>0,05$). Sensibilitate sporită și rezistență foarte mică s-a înregistrat la peneme, care a fost de doar 8,30% cu metoda manuală și 8,72% cu sistemul V2C ($t=0,04$, $p>0,05$) (figura 4.12).

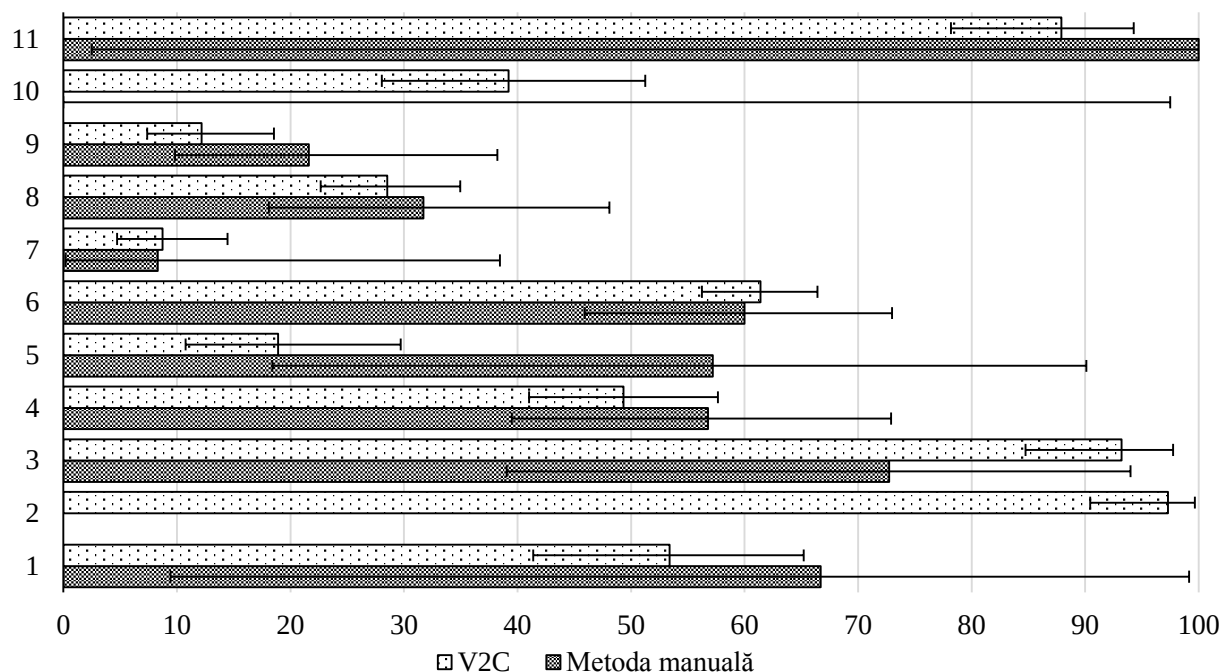


Fig. 4.12. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. cloacae* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) peniciline; 2) cefazolină; 3) cefalosporine II gen.; 4) cefalosporine III gen.; 5) cefalosporine IV gen.; 6) cefalosporine total; 7) peneme; 8) aminoglicozide; 9) chinolone; 10) antifolați; 11) nitrofurane;

Deoarece cu sistemul V2C au fost testate un număr foarte mic de tulpini de *E. aerogenes*, este dificil de a efectua o comparație obiectivă cu tulpinile testate prin metoda clasică privind sensibilitatea/rezistența la antibiotice. La tulpinile testate prin metoda clasică s-a determinat rezistență înaltă față de peniciline (93,75%) cefalosporine (69,30%) și aminoglicozide (55,90%)

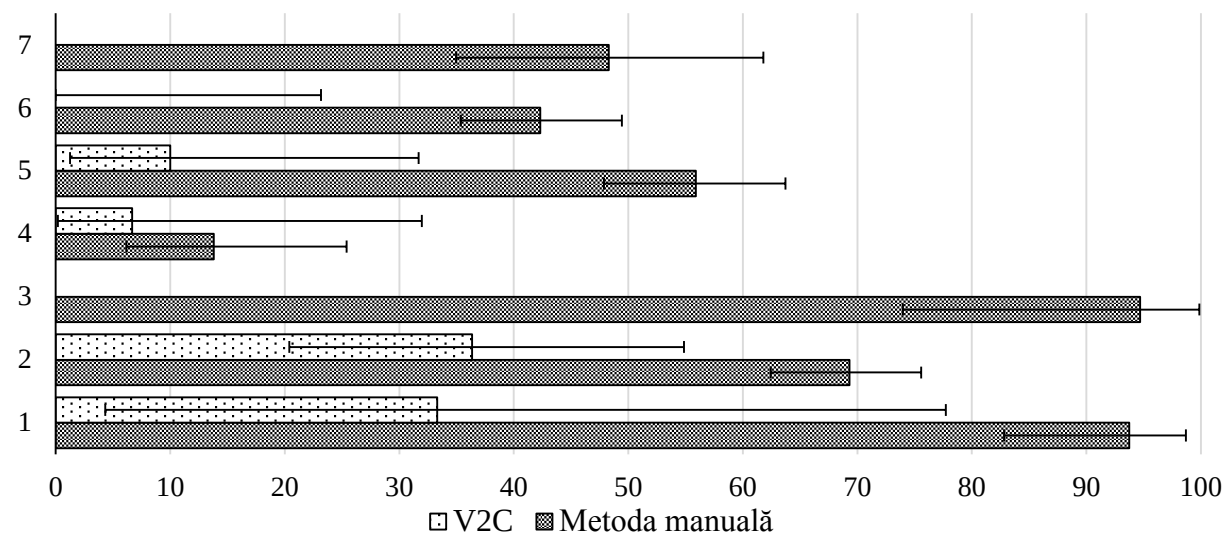


Fig. 4.13. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *E. aerogenes* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) peniciline; 2) cefalosporine total; 3) monobactame; 4) peneme; 5) aminoglicozide; 6) chinolone; 7) teracicline

Totodată, rezistență joasă, tulpinile testate atât prin metoda clasică (13,80%), cât și cele testate prin sistemul V2C (6,70%), s-a determinat față de peneme, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,87$, $p>0,05$). Rezistență moderată, tulpinile testate cu metoda manuală au manifestat față de aminoglicozide (55,90%) și chinolone (42,30%). Spre deosebire, tulpinile testate cu sistemul V2C au manifestat o rezistență mică și sensibilitate sporită la majoritatea grupelor de antibiotice, fapt ce se explică prin numărul mic de tulpini testate (figura 4.13).

Tulpinile de *P. mirabilis* au manifestat o rezistență înaltă față de majoritatea grupelor de antibiotice, în special la peniciline, cefalosporine, beta-lactam+inhibitor, aminoglicozide, chinolone și nitrofurane. Doar la peneme, tulpinile au avut un nivel de rezistență mai mic, atât cele testate cu metoda manuală (20,55%), cât și cele testate cu sistemul V2C (20,15%).

În funcție de metoda de testare, din grupul penicinelor, au fost utilizate antibiotice diferite. Astfel, că tulpinile testate cu metoda manuală, au fost mai rezistente la amoxicilină (82,10%) și ticarcilină (94,50%), iar cele testate cu sistemul V2C au fost mai rezistente la ampicilină (80,60%) și piperacilină (74,60%) (figura 4.14).

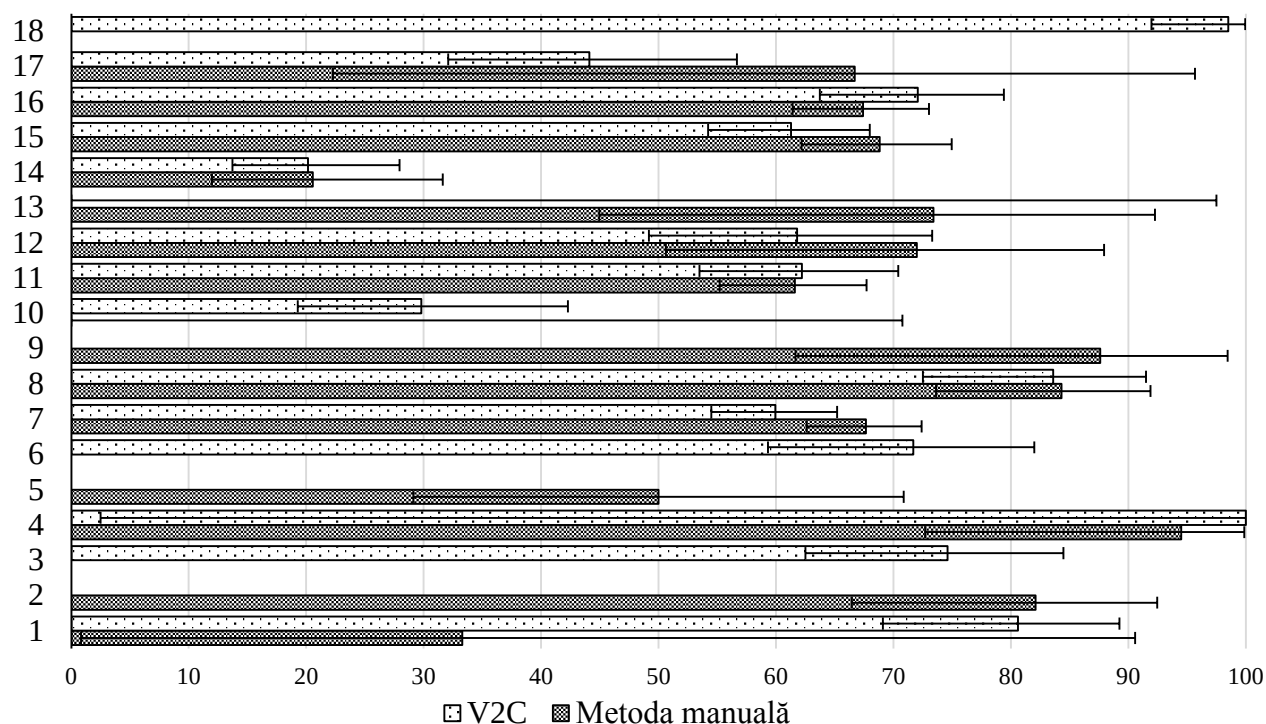


Fig. 4.14. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *P. mirabilis* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

1) ampicilină; 2) amoxicilină; 3) piperacilină; 4) ticarcilină; 5) amoxicilină/clavulanic acid; 6) ampicilină/sulbactam; 7) cefalosporine total; cefazolină; 8) cefalosporine I gen.; 9) cefaclor; 10) cefoxitin; 11) cefalosporine III gen.; 12) cefalosporine IV gen.; 13) monobactame; 14) peneme; 15) aminoglicozide; 16) chinolone; 17) antifolați; 18) nitrofurane;

Cât privește grupul beta-lactam+inhibitor, au fost utilizate combinații diferite pentru testarea sensibilității/rezistenței. Cu metoda manuală, tulpinile au fost testate la amoxicilină/

clavulanic acid, cu un nivel de rezistență foarte înalt – 83,80%. De către sistemul V2C, din acest grup a fost utilizată preponderent combinația ampicilină/sulbactam, de asemenea cu un nivel de rezistență foarte înalt – 71,70%.

De asemenea și față de cefalosporine, aceste tulpini au manifestat o rezistență înaltă, atât cele testate cu metoda manuală (67,65%), cât și cele testate cu sistemul V2C (59,94%). Din grupul cefalosporinelor, cel mai înalt nivel de rezistență, aceste tulpini l-au avut la cele de generația I-a, atât cele testate cu metoda manuală (84,30%), cât și cele testate cu sistemul V2C (83,60%), iar la cefoxitin, cefalosporine de generația a II-a, au avut cel mai mic nivel de rezistență – 29,80% cu sistemul V2C, iar cu metoda manuală au fost testate doar 3 tulpini la acest antibiotic, toate dovedindu-se a fi sensibile.

Din aminoglicozide, în special la gentamicină și tobramicină, s-a înregistrat un nivel de rezistență mai înalt, atât cu metoda manuală – 71,80% și 89,60%, respectiv, cât și cu sistemul V2C – 69,10% și 67,6%, respectiv (figura 4.14).

Și la chinolone, nivelul de rezistență a fost destul de înalt și nu diferă în funcție de metoda utilizată, care a fost de 67,42% la tulpinile testate cu metoda manuală și 72,06% la cele testate cu sistemul V2C ($t=0,96$, $p>0,05$). Din acest grup, la ciprofloxacină, s-a înregistrat cea mai înaltă rezistență – 73,40% cu metoda manuală și 73,05% cu sistemul V2C.

Tulpinile de *K. oxytoca* și *K. pneumoniae*, ca și cele de *E. coli* au fost testate cu privire la prezența ESBL.

Tulpinile de *K. oxytoca* testate cu sistemul V2C s-au dovedit a fi mai sensibile la antibiotice spre deosebire de cele testate cu metoda manuală. Însă cu metoda manuală au fost testate doar 4 tulpini, datele având un grad mare de eroare. Cu sistemul V2C, aceste tulpini au fost testate la prezența enzimei ESBL, 23,50% din aceste tulpini au fost producătoare de această enzimă. Rezistență mai înaltă, tulpinile testate cu sistemul V2C au manifestat la ampicilină (82,40%) și nitrofurantoin (53,0%). Spre deosebire de alte tulpini din familia Enterobacteriaceae, aceste tulpini nu au fost rezistente la peneme. Tulpinile testate cu sistemul V2C au avut un nivel de rezistență redus și la gentamicină și tobramicină (17,6%), antibiotice din clasa aminoglicozidelor. Spre deosebire, cu metoda manuală la aceste antibiotice au fost rezistente 33,30% și respectiv 50,0% din tulpini, însă din cauza numărului mic de tulpini, rezultatele au un grad mare de eroare. La ciprofloxacină și levofloxacină, din clasa chinolonei, tulpinile testate cu sistemul V2C au avut un nivel de rezistență foarte scăzut – 5,90%.

Tulpinile de *K. pneumoniae*, ca și alte tulpini din familia Enterobacteriaceae, s-au manifestat printr-o rezistență crescută la antibiotice. Rezistență redusă, aceste tulpini au avut doar la ertapenem, imipinem și meropenem, din grupul penemelor. Nivelul de rezistență la această

grupă a fost de 25,0% la tulpinile testate cu metoda manuală și 12,85% la cele testate cu sistemul V2C ($t=2,46$, $p<0,05$) (figura 4.15).

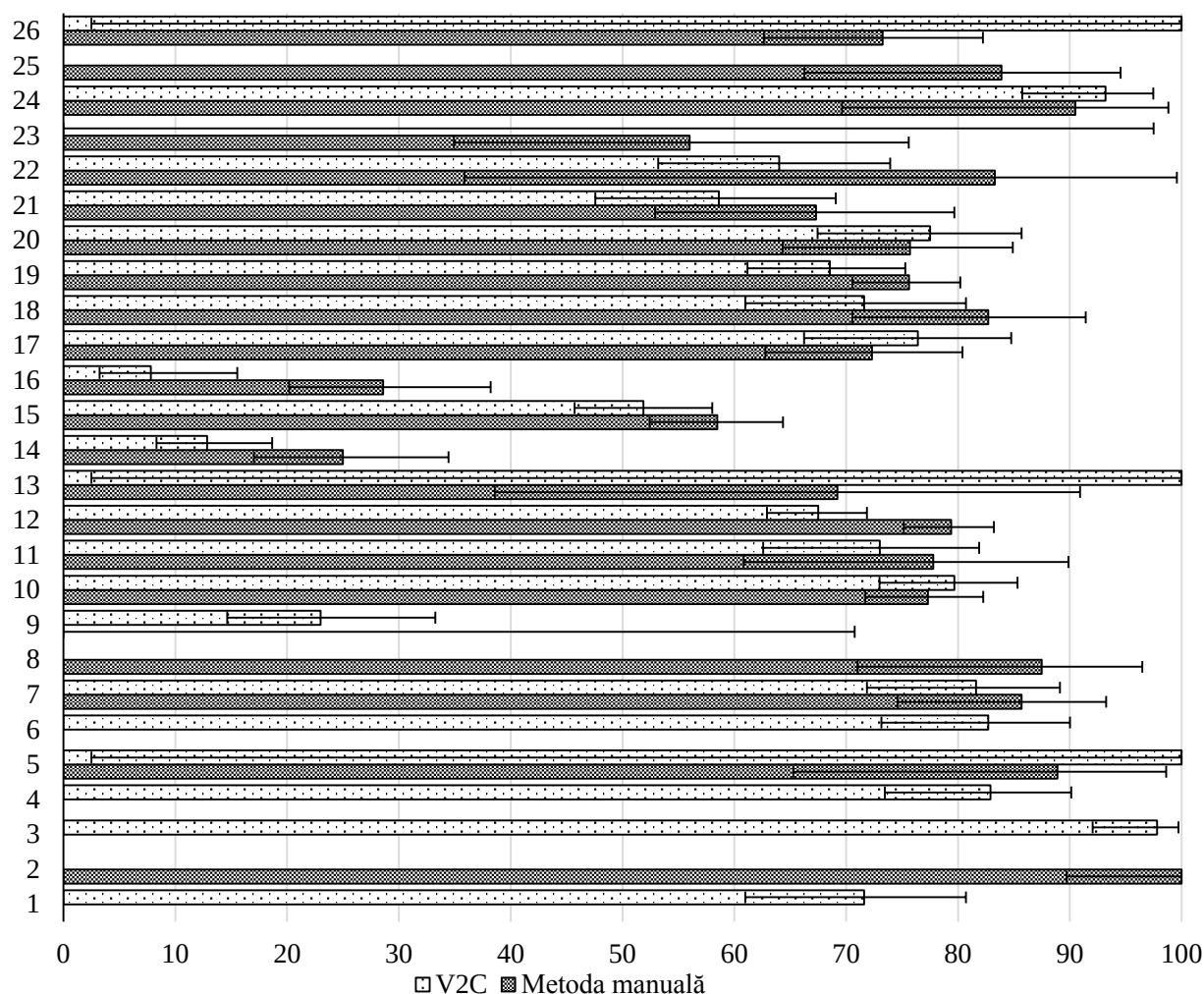


Fig. 4.15. Nivelul de rezistență al tulpinilor de *K. pneumoniae* testate cu sistemul V2C și metoda manuală.

- 1) ESBL; 2) amoxicilină; 3) ampicilină; 4) piperacilină; 5) amoxicilină/clavulanic acid; 6) ampicilină/sulbactam; 7) cefalosporine I gen.; 8) cefoperazone; 9) cefoxitin; 10) cefalosporine III gen.; 11) cefalosporine IV gen.; 12) cefalosporine total; 13) monobactame; 14) peneme; 15) aminoglicozide; 16) amikacină; 17) gentamicină; 18) tobramicină; 19) chinolone; 20) ciprofloxacină; 21) levofloxacină; 22) antifolați; 23) fosfomicine; 24) nitrofurane; 25) phenicols; 26) tetraciline.

La cefalosporine de toate generațiile aceste tulpini au avut un nivel înalt de rezistență. Din clasa cefalosporinelor, mai frecvent tulpinile de *K. pneumoniae* au fost testate la cefalosporinele de generația a III-ea. Nivelul de rezistență a fost de 77,30% la tulpinile testate cu metoda manuală și 79,66% cu sistemul V2C. Cu sistemul V2C au fost depistate 63 tulpini (71,60%) producătoare de ESBL, ceea ce face ca aceste tulpini să fie rezistente la majoritatea antibioticelor beta-lactamine.

Un nivel de rezistență înalt, tulpinile date au avut și la aminoglicozide și chinolone, atât cu metoda manuală – 58,48% și 75,62%, respectiv, cât și cu sistemul V2C - 51,88% și 68,54%, respectiv. Însă din clasa aminoglicozidelor, la amikacină îndeosebi tulpinile testate cu sistemul V2C au avut un nivel de rezistență foarte scăzut – 7,80%, iar cu metoda manuală a fost de 28,60%.

Iar la gentamicină și tobramicină, nivelul de rezistență a fost foarte înalt, atât la tulpinile testate cu metoda manuală – 72,30% și 82,70%, respectiv, cât și la cele testate cu sistemul V2C – 76,40% și 71,60%, respectiv.

Din grupul chinolonelor, mai frecvent au fost folosite ciprofloxacina și levofloxacina, la care au fost rezistente 77,50% și 58,60%, respectiv, din tulpinile testate cu sistemul V2C și 75,70% și 67,30%, respectiv, din tulpinile testate cu metoda manuală (figura 4.15).

Tabelul 4.3. Sensibilitatea/rezistența comparativă a tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP, cu ajutorul metodei clasice și a sistemului automatizat VITEK 2 Compact

Grupul antibioticelor	Metoda manuală			VITEK 2 Compact		
	Total probe	S %	R % (95% CI)	Total probe	S %	R % (95% CI)
ESBL	-	-	-	231	50,60	49,40 (42,7-56,0)
Peniciline	1692	50,83	49,15 (46,7-51,6)	1849	30,72	69,28 (67,1-71,4)
Beta-lactam+Inhib.	469	72,30	27,70 (23,7-32,0)	616	24,84	75,16 (71,6-78,5)
Cefalosporine I gen.	1600	58,13	41,88 (39,4-44,3)	690	17,80	82,20 (79,1-85,0)
Cefalosporine II gen.	894	44,52	55,48 (52,2-58,8)	942	47,50	52,50 (49,3-55,8)
Cefalosporine III	2525	35,13	64,87 (62,9-66,7)	1410	39,15	60,85 (58,2-63,4)
Cefalosporine IV	517	47,20	52,80 (48,4-57,2)	709	52,80	47,20 (43,5-51,0)
Total Cefalosporine	5536	44,42	55,58 (54,3-56,9)	3751	39,88	60,12 (58,5-61,7)
Monobactame	204	20,6	79,50 (73,2-84,7)	4	50,00	50,00 (6,8-93,2)
Peneme	880	67,84	32,16 (29,1-35,4)	1091	82,86	17,14 (15,0-19,5)
Aminoglicozide	3149	54,75	45,25 (43,5-47,0)	2353	61,00	39,00 (37,0-41,0)
Ansamidine	524	81,50	18,50 (15,3-22,1)	252	84,10	15,90 (11,6-21,0)
Chinolone	3406	46,80	53,20 (51,5-54,9)	1975	56,60	43,40 (41,2-45,6)
Antifolați	120	43,30	56,70 (47,3-65,7)	1015	58,60	41,30 (38,3-44,5)
Fosfomicine	171	55,00	45,00 (37,4-52,8)	263	83,30	16,70 (12,4-21,8)
Lincomicine	1027	63,00	37,00 (34,0-40,0)	302	64,90	35,10 (29,7-41,0)
Lipopeptide	115	99,10	0,90 (0-4,7)	8	87,50	12,50 (0,3-52,7)
Macrolide	1727	60,97	39,03 (36,7-41,4)	293	59,00	41,00 (35,3-46,8)
Nitrofurane	146	42,47	57,53 (49,1-65,7)	701	24,20	75,80 (72,4-78,9)
Oxazolidine	-	-	-	304	96,70	3,30 (1,6-6,0)
Glicopeptide	827	89,80	10,20 (8,2-12,4)	600	97,00	3,00 (1,8-4,7)
Phenicol	223	47,10	52,90 (46,1-59,6)	-	-	-
Tetracicline	482	56,00	44,00 (39,5-48,5)	336	67,56	32,44 (27,5-37,7)
Fusidine	3	33,30	66,70 (9,4-99,2)	22	100,00	0,00 (0-15,4)
Antifungice	246	57,30	42,70 (36,4-48,9)	-	-	-
Total	20947	54,10	45,90 (45,3-46,6)	15735	53,20	46,80 (46,0-47,6)

Analiza comparativă a sensibilității / rezistenței tulpinilor izolate de la pacienții cu ISP, testate prin metoda clasică și sistemul automatizat VITEK 2 Compact a evidențiat o diferență a rezistenței / sensibilității dintre grupele de antibiotice (tabelul 4.3).

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 cu metoda clasică (49,15%), față de beta-lactam+inhibitor – 75,16% și 27,70% respectiv. Nivelul de rezistență la cefalosporine a fost mai înalt la tulpinile testate cu sistemul V2C (60,12%) decât la tulpinile testate cu metoda manuală (55,58%), în special la cefalosporinele de generația I-a, care a fost de 82,20% la cele testate cu sistemul V2C și de 41,88% la cele testate cu metoda manuală. Doar la cefalosporinele de generația a III-ea, tulpinile testate cu metoda manuală s-au dovedit a fi mai rezistente (64,87%) față de cele testate cu sistemul V2C. Nivelul de rezistență la cefalosporinele de generația a II-a și a IV-a, nu diferă în funcție de metoda de testare utilizată.

Microorganismele testate cu metoda manuală s-au dovedit a fi mai rezistente la peneme (32,16%), decât cele testate cu sistemul V2C (17,14%), iar cele testate cu sistemul V2C au fost mai rezistente la nitrofurane (75,80%) decât cele testate cu metoda manuală (57,53%). Față de ansamicine, atât tulpinile testate cu metoda manuală, cât și cele testate cu sistemul V2C au manifestat o sensibilitate sporită – 81,50% și 84,10%, respectiv. Nivelul de rezistență la lincomicine și macrolide nu a fost diferit în funcție de metoda de testare folosită. Astfel că la tulpinile testate cu metoda manuală a fost de 37,0% și 39,03%, respectiv, și la tulpinile testate cu sistemul V2C de 35,10% și 41,0%, respectiv (tabelul 4.3).

La glicopeptide, 10,20% din tulpinile testate cu metoda manuală au fost rezistente, iar cele testate cu sistemul V2C doar 3,0%, diferența se datorează depistării cu metoda manuală (disc-difuzimetrică) a tulpinilor de *S. aureus* rezistente la vancomicină. Rezistența la vancomicină nu este detectată corespunzător de către această metodă, deoarece nu poate face distincția dintre tulpinile sălbatice și dintre cele la care rezistența nu e mediată de gena *vanA*.

De asemenea și la alte grupe de antibiotice, așa ca aminoglicozide, chinolone, antifolați, fosfomicine și tetraciline s-au înregistrat diferențe privind nivelul de rezistență dintre tulpinile testate cu metoda manuală și cele testate cu sistemul V2C.

Diferențele dintre nivelurile de rezistență ale tulpinilor testate cu 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. Astfel că dacă o tulpină este intermediară cu metoda manuală, atunci cu metoda automatizată, tulpina poate fi sensibilă. De asemenea cu metoda automatizată se exclud erorile tehnice care pot influența rezultatul. Aceste erori pot fi așa ca: numărul de discuri foarte mari (întrepătrunderea zonelor de inhibiție), însămânțare neomogenă, erori de citire, păstrarea

necorespunzătoare a reactivelor. Însă metoda automatizată folosește reactive standardizate și citirea rezultatelor are loc automatizat, astfel că se exclud erorile umane.

Așadar, 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. Prin sistemul V2C au fost predominant identificate microorganisme gram-negative (68,5%), comparativ cu doar 51,13% cu metoda manuală.

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

Pe parcursul anilor 2010 și 2013 au fost izolate și testate la antibiotice 3940 și respectiv 3003 tulpini de microorganisme, care aparțin la 51 și respectiv 99 specii, fapt ce demonstrează atât natura polietologică a ISP, cât și creșterea numărului de specii de microorganisme – agenți cauzali în ISP.

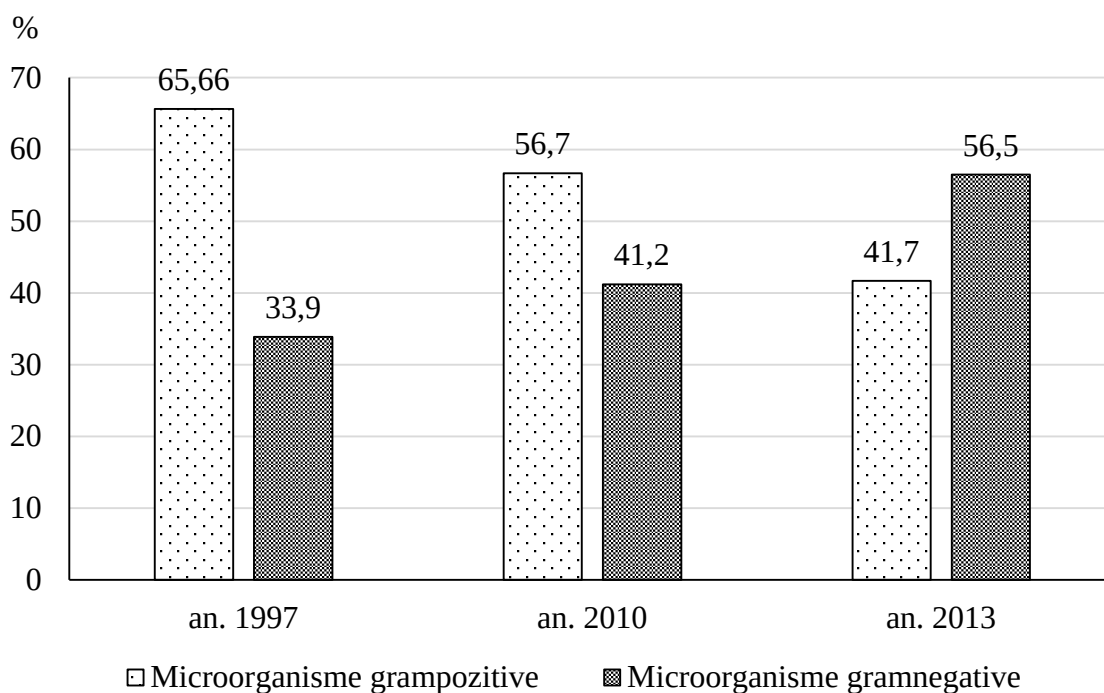


Fig. 4.16. Evoluția structurii microorganismelor – agenți cauzali în infecțiile septico-purulente.

Analiza comparativă a rezultatelor unui studiu asemănător efectuat anterior privitor la structura agenților cauzali ai ISP în aceeași unitate spitalicească [19,94], 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 (figura 4.16). 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.

Tabelul 4.4. Structura etiologică comparativă în dinamică multianuală a infecțiilor septico-purulente

	Microorganismele (specia)	Anii					
		1997		2010		2013	
		Nr. tulpini	% din total	Nr. tulpini	% din total	Nr. tulpini	% din total
Microorganisme gram-pozitive	S. aureus	518	33,10	671	17,03	421	14,02
	S. epidermidis	172	11,10	845	21,45	295	9,82
	S. mutans	-	-	86	2,18	-	-
	S. pyogenes	151	9,75	121	3,07	131	4,36
	S. viridans	53	3,42	55	1,40	30	1,00
	E. faecalis	66	4,26	409	10,38	167	5,56
	E. faecium	21	1,36	14	0,36	32	1,07
	S. haemolyticus	-	-	7	0,18	67	2,23
	Staphylococcus, coagulase negative	-	-	-	-	13	0,43
	Bacillus sp.	-	-	23	0,58	15	0,50
	S. agalactiae	-	-	-	-	16	0,53
	Enterococcus sp.	-	-	-	-	8	0,27
	Alte microorganisme	36	2,32	6	0,10	48	1,60
	Total microorg. Gram+	1017	65,66	2237	56,78	1243	41,40
	Acinetobacter sp.	52	3,36	121	3,07	258	8,60
	P. aeruginosa	74	4,78	255	6,47	419	13,95
	E. coli	113	7,30	439	11,14	342	11,40
	E. aerogenes	32	2,07	100	2,54	79	2,63
	E. cloacae	20	1,29	105	2,66	90	3,00
	K. pneumoniae	39	2,52	211	5,36	208	6,92
	K. oxytoca	5	0,32	30	0,76	21	0,70
	C. freundii	8	0,52	55	1,40	21	0,70
	C. diversus	3	0,19	10	0,25	2	0,07
	P. mirabilis	96	6,20	89	2,26	168	5,60
	P. vulgaris	48	3,10	44	1,12	19	0,63
	P. rettgeri	-	-	44	1,12	1	0,03
	P. alcalifaciens	-	-	12	0,30	2	0,03
	M. morganii	15	0,97	38	0,96	12	0,40
	Neisseria sp.	-	-	27	0,51	3	0,10
	Serratia sp.	18	1,16	38	0,96	20	0,66
	Alte microorg.	9	0,58	6	0,15	54	1,83
	Total microorg. Gram-	525	33,90	1624	41,22	1719	57,24
Fungi	C. albicans	7	0,45	63	1,60	28	0,93
	C. krusei	-	-	12	0,30	5	0,16
	Alte specii	-	-	4	0,10	8	0,27
	Total fungi	7	0,45	79	2,01	41	1,36
	Total	1549	100,0	3940	100,0	3003	100,0

Din microorganismele gram-pozitive, au predominat tulpinile din genul Staphylococcus: S. epidermidis – 21,45% în anul 2010 și 9,82% în anul 2013, S. aureus – 17,03% și 14,02%, respectiv, S. haemolyticus – 0,18% și 2,23%, respectiv, urmate de genul Enterococcus: E. faecalis

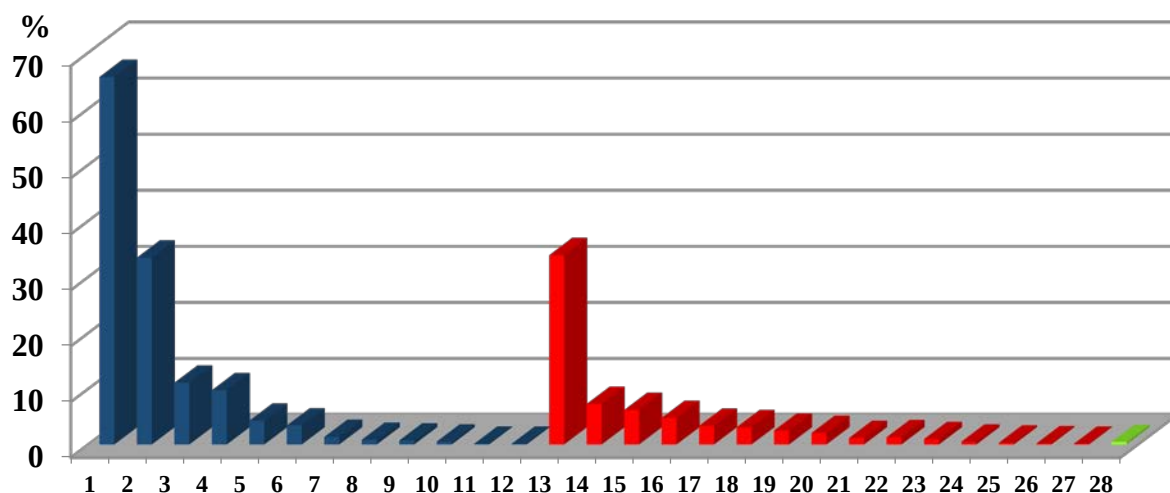


Fig. 4.17. Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU (anul 1997)

1) Total microorganisme grampozitive; 2) *S. aureus*; 3) *S. epidermidis*; 4) *S. pyogenes*; 5) *E. faecalis*; 6) *S. viridans*; 7) *E. faecium*; 8) *C. perfringens*; 9) *Peptostreptococcus* spp.; 10) *C. xerosis*; 11) *Corynebacterium* spp.; 12) *Propionibacterium* spp.; 13) Total microorganisme gramnegative; 14) *E. coli*; 15) *P. mirabilis*; 16) *P. aeruginosa*; 17) *Acinetobacter* sp.; 18) *P. vulgaris*; 19) *K. pneumoniae*; 20) *E. aerogenes*; 21) *S. marcescens*; 22) *E. cloacae*; 23) *M. morganii*; 24) *C. freundii*; 25) *K. oxytoca*; 26) *C. diversus*; 27) *H. alvei*; 28) *Candida* spp.

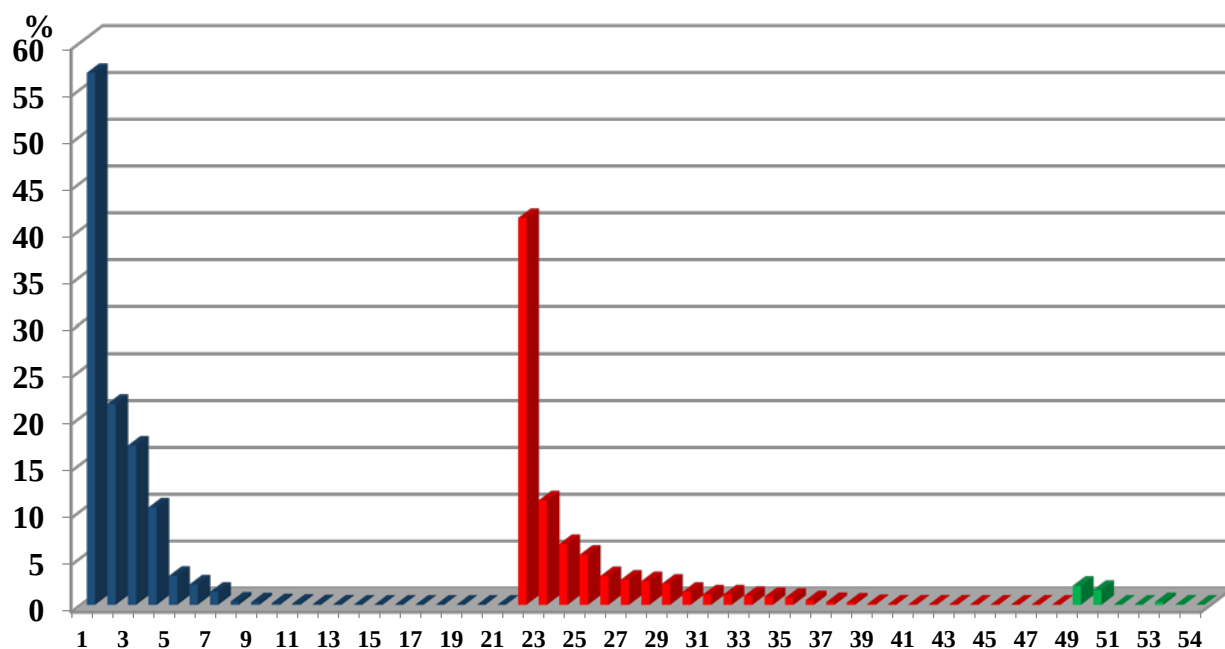


Fig. 4.18. Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU (anul 2010)

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*.

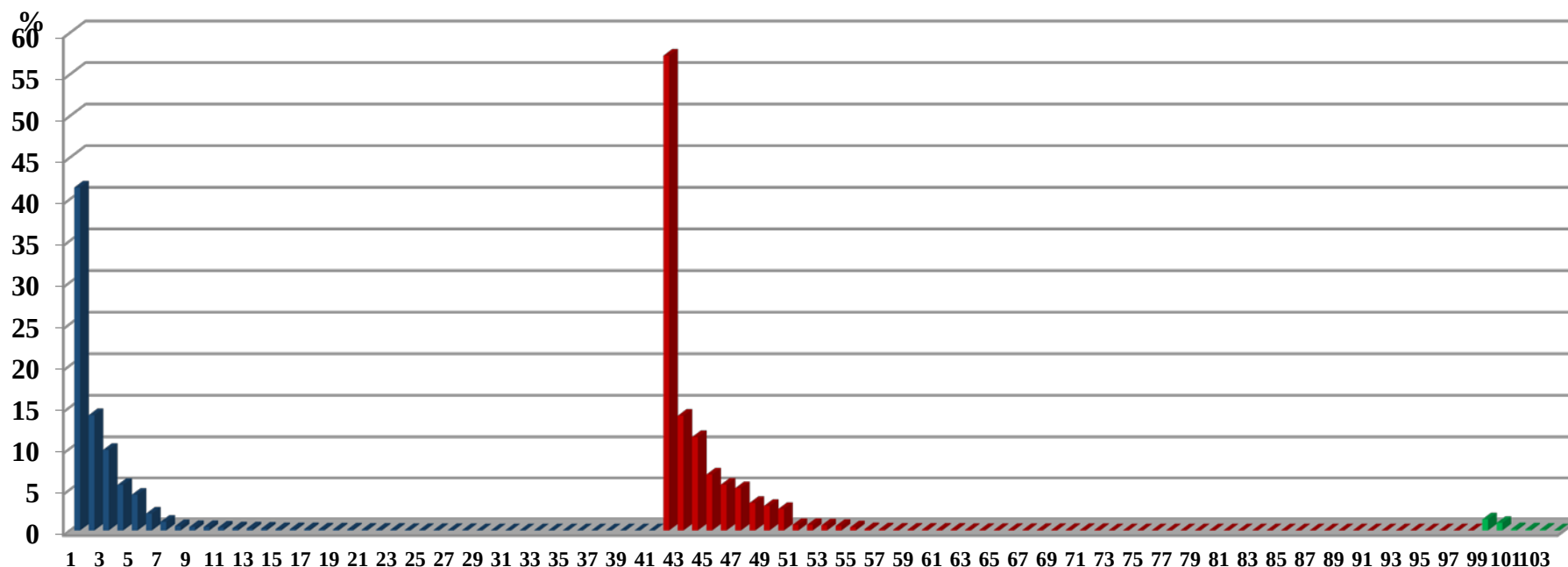


Fig. 4.19. Structura microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP din IMSP IMU (anul 2013)

1) Total microorganisme grampozitive; 2) *S. aureus*; 3) *S. epidermidis*; 4) *E. faecalis*; 5) *S. pyogenes*; 6) *S. haemolyticus*; 7) *E. faecium*; 8) *S. agalactiae*; 9) *Staphylococcus*, coagulase negative; 10) *S. mitis*; 11) *S. viridans*; 12) *K. kristinae*; 13) *P. alvei*; 14) *Enterococcus* sp.; 15) *S. hominis*; 16) *S. sciuri* ss. *lentus*; 17) *S. mutans*; 18) *S. pneumoniae*; 19) *B. sphaericus*; 20) *C. pseudodiphtheriticum*; 21) *S. saprophyticus*; 22) *S. simulans*; 23) *K. rosea*; 24) *S. intermedius*; 25) *S. lugdunensis*; 26) *S. warneri*; 27) *S. pleomorphus*; 28) *B. megaterium*; 29) *S. auricularis*; 30) *S. chromogenes*; 31) *S. sciuri* ss. *sciuri*; 32) *S. dysgalactiae*; 33) *S. salivarius*; 34) *S. uberis*; 35) *E. gallinarum*; 36) *Bacillus* sp.; 37) *C. xerosis*; 38) *M. luteus*; 39) *R. mucilaginosus*; 40) *A. otitidis*; 41) *Gemella* sp.; 42) Total microorganisme gramnegative; 43) *P. aeruginosa*; 44) *E. coli*; 45) *K. pneumoniae*; 46) *P. mirabilis*; 47) *Acinetobacter* sp.; 48) *A. baumannii*; 49) *E. cloacae*; 50) *E. aerogenes*; 51) *C. freundii*; 52) *K. oxytoca*; 53) *P. vulgaris*; 54) *S. marcescens*; 55) *M. morganii*; 56) *C. braakii*; 57) *Salmonella enterica* ss. *diarizonae*; 58) *K. pneumoniae* ss. *ozaenae*; 59) *S. fonticola*; 60) *S. paucimobilis*; 61) *S. maltophilia*; 62) Non-fermenting gram negative rods; 63) *C. diversus*; 64) *P. putida*; 65) *P. agglomerans*; 66) *Pantoea* sp.; 67) *R. ornitholytica*; 68) *R. planticola*; 69) *Salmonella enteritidis*; 70) *Salmonella* sp.; 71) *S. putrefaciens*; 72) *A. hydrophila*; 73) *A. calcoaceticus*; 74) *A. lwoffii*; 75) *E. gergoviae*; 76) *E. cancerogenus*; 77) *M. morganii* ss. *sibonii*; 78) *M. catarrhalis*; 79) *P. rettgeri*; 80) *P. stuartii*; 81) *P. alcalifaciens*; 82) *P. mendocina*; 83) *P. pseudoalcaligenes*; 84) *P. stutzeri*; 85) *N. elongata*; 86) *N. perflava*; 87) *N. flavescens*; 88) *Salmonella enterica* ss. *arizonae*; 89) *Salmonella enterica* ss. *enterica*; 90) *S. alga*; 91) *S. sonnei*; 92) *S. thalpophilum*; 93) *H. alvei*; 94) *A. caviae*; 95) *A. sobria*; 96) *A. veronii*; 97) *C. luteola*; 98) *A. faecalis*; 99) *Fungi*; 100) *C. albicans*; 101) *C. krusei*; 102) *C. tropicalis*; 103) *C. glabrata*; 104) *C. kefyr*;

– 10,38% și 5,56%, respectiv, *E. faecium* – 0,36% și 1,07%, respectiv și tulpini din genul *Streptococcus*: *S. pyogenes* – 3,07% și 4,36%, respectiv, *S. viridans* – 1,40% și 1,00%, respectiv. În anul 2010, grupul „alte microorganisme” (*S. mitis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *M. alvei*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. pseudotuberculosis*) a constituit numai 0,10%. Spre deosebire, în anul 2013, din grupul „alte microorganisme”, cu o pondere de 1,60% au făcut parte mult mai multe microorganisme, așa ca: *S. auricularis*, *S. chromogenes*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. dysgalactiae*, *S. pleomorphus*, *S. pneumoniae*, *S. uberis*, *K. kristinae*, *K. rosea*, *C. xerosis*, *C. pseudodiphtheriticum*, *M. luteus*, *R. mucilagenosus*, *A. otitidis*, *Gemella* sp. (tabelul 4.4, figura 4.19)

Din rândul microorganismelor gram-negative, în anul 2010 predominant au fost izolate tulpini de *E. coli* – 11,14%, *P. aeruginosa* – 6,47%, *K. pneumoniae* – 5,36%, *Acinetobacter* sp. – 3,07%, urmate de *E. cloacae* – 2,66%, *E. aerogenes* – 2,54%, *P. mirabilis* – 2,26%, *P. rettgeri* – 1,12% și *P. vulgaris* – 1,12%. Spre deosebire în anul 2013, mai frecvent au fost izolate tulpini de *P. aeruginosa* – 13,95%, *E. coli* – 11,40%, *Acinetobacter* sp. – 8,60%, *K. pneumoniae* – 6,92%, urmate de *P. mirabilis* – 5,60%, *E. cloacae* – 3,00%, *E. aerogenes* – 2,63%. Spre deosebire, grupul „alte microorganisme” (EHEC, *P. fluorescens*, *B. cepacia*, *S. maltophilia*) a avut o pondere de 0,15% din total în anul 2010, iar în anul 2013, grupul „alte microorganisme” a avut o pondere de 1,83%, din care au făcut parte așa microorganisme ca: *E. gergoviae*, *E. cancerogenus*, *C. braakii*, *M. catarrhalis*, *P. mendocina*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. agglomerans*, ș.a.

Ponderea fungilor a fost de 2,01% în anul 2010 și 1,36% în anul 2013, iar cele mai des izolate tulpini au fost *C. albicans* și *C. krusei*. (tabelul 4.4, figura 4.18, 4.19).

Analiza sensibilității/rezistenței tulpinilor de microorganisme izolate de la pacienții cu ISP 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 (tabelul 4.5)

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. 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% (tabelul 4.5).

Prezintă interes și evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței microorganismelor în funcție de specie, care a evidențiat atât lucruri comune, cât și deosebiri.

Tabelul 4.5. Evoluția în dinamică multianuală a antibioticosensibilității/ rezistenței comparative a microorganismelor izolate de la pacienții cu ISP

Microorganismele (specia)	An. 2010			An. 2013		
	Nr. test. la antib.	S	R	Nr. test. la antib.	S	R
		%	% (95% C.I.)		%	% (95% C.I.)
Microorganisme gram-pozitive						
S. aureus	4132	68,34	31,66 (30,2-33,1)	5348	79,64	20,36 (19,3-21,5)
S. epidermidis	5192	56,10	43,90 (42,6-45,3)	3700	60,0	40,00 (38,5-41,7)
S. haemolyticus	43	74,40	25,60 (13,5-41,2)	878	52,85	47,15 (43,8-55,5)
Staph., coag. neg.	-	-	-	168	42,86	57,14 (49,3-64,7)
S. mutans	524	71,56	28,44 (24,6-32,5)	-	-	-
S. pyogenes	732	79,40	20,60 (17,8-23,7)	1541	88,25	11,75 (10,2-13,5)
S. viridans	332	71,40	28,60 (23,8-33,8)	284	60,56	39,44 (37,7-45,4)
S. agalactiae	-	-	-	146	87,70	12,30 (7,5-18,8)
E. faecalis	2241	41,14	58,86 (56,8-61,0)	1439	41,49	58,51 (55,9-61,1)
E. faecium	80	72,50	27,50 (18,1-38,6)	272	66,90	33,10 (27,5-39,0)
Enterococcus sp.	-	-	-	84	64,30	35,70 (25,5-47,0)
Bacillus sp.	144	52,80	47,20 (38,9-55,7)	96	67,70	32,30 (23,1-42,6)
Alte microorganisme	47	55,30	44,70 (30,2-60,0)	342	77,50	22,50 (18,2-27,3)
Total microorg. Gram+	13467	59,75	40,25 (39,4-41,1)	14298	68,80	31,20 (30,4-32,0)
Microorganisme gram-negative						
Acinetobacter sp.	1295	13,13	86,87 (85,0-88,7)	3245	17,44	82,56 (81,2-83,8)
P. aeruginosa	1985	40,55	59,45 (57,2-61,6)	4954	35,00	65,00 (63,7-66,3)
E. coli	4131	49,90	50,10 (48,5-51,6)	4721	64,30	35,70 (34,3-37,1)
E. aerogenes	810	32,00	68,00 (64,7-71,2)	883	48,36	51,64 (48,2-55,0)
E. cloacae	815	40,60	59,40 (56,0-62,8)	1279	59,66	40,34 (37,6-43,1)
K. oxytoca	269	40,50	59,50 (53,3-65,4)	335	72,54	27,46 (22,8-32,6)
K. pneumoniae	1951	26,65	73,35 (71,3-75,3)	2875	33,90	66,10 (64,3-67,8)
C. freundii	435	51,26	48,74 (44,0-53,5)	277	71,84	28,16 (23,0-33,9)
C. diversus	96	53,12	46,88 (36,6-57,3)	23	78,26	21,74 (7,5-43,7)
M. morgani	299	53,50	46,50 (40,7-52,3)	167	71,26	28,74 (22,0-36,2)
P. mirabilis	855	35,52	64,68 (61,4-67,8)	2216	36,73	63,27 (61,2-65,3)
P. rettgeri	398	16,60	83,40 (79,4-87,0)	17	100,0	0 (0-19,5)
P. vulgaris	385	50,65	49,35 (44,2-54,4)	247	74,50	25,50 (20,2-31,4)
Neisseria sp.	120	53,30	46,70 (37,5-56,0)	19	73,70	26,30 (9,1-51,2)
P. alcalifaciens	116	6,90	93,10 (87,0-97,0)	29	58,60	41,40 (23,5-61,1)
Serratia sp.	291	43,00	57,00 (51,1-62,8)	259	67,60	32,40 (26,7-38,5)
Alte microorg.	35	51,40	48,60 (31,4-66,0)	592	70,95	29,05 (25,4-32,9)
Total microorg. Gram-	14286	38,34	61,66 (60,8-62,5)	22138	43,90	56,10 (55,4-56,7)
Fungi						
C. albicans	326	34,66	65,33 (60,0-70,5)	168	63,70	36,30 (29,0-43,7)
C. krusei	65	47,70	52,30 (39,5-64,9)	30	26,70	73,30 (54,1-87,2)
Alte specii	21	33,30	66,70 (43,0-85,4)	48	54,20	45,80 (31,4-60,0)
Total fungi	412	36,65	63,35 (58,5-68,0)	246	57,30	42,70 (36,4-48,9)
Total	28164	48,56	51,44 (50,8-52,0)	36682	53,76	46,24 (45,7-46,7)

Din genul *Staphylococcus*, în special în anul 2013, cele mai rezistente tulpini au fost cele de *S. haemolyticus*, urmate de *S. epidermidis* și *S. aureus*. Grupul *Staphylococcus coagulase negative*, care a fost izolat doar în anul 2013, de asemenea au avut un nivel de rezistență înalt.

Spre exemplu, nivelul de rezistență al tulpinilor de *S. aureus* la peniciline a fost înalt atât în anul 2010 (44,56%), cât și în anul 2013 (41,35%), diferența nefiind veridică statistic ($t=0,99$,

$p>0,05$). La oxacilină (MRSA) au fost rezistente 43,60% din tulpinile testate la acest antibiotic în anul 2010, iar în anul 2013 doar 22,80%. În anul 2010, nivelul de rezistență la cefalosporine a fost mult mai înalt (64,70%) comparativ cu 2013 (38,62%). Cele mai semnificative diferențe s-au înregistrat la cefalosporinele de generația I-a și a II-a, care se explică prin utilizarea unor antibiotice diferite pentru testarea sensibilității/rezistenței tulpinilor. Dacă în anul 2010, din cefalosporinele de generația I-a a fost utilizată preponderent cefalexina, nivelul de rezistență fiind de 65,0%, atunci în anul 2013 nivelul de rezistență la acest antibiotic a fost de 25,60%, însă a mai fost utilizată și cefazolina, cu un nivel de rezistență de 23,60%. La acest antibiotic, în anul 2010 au fost testate doar 8 tulpini, dintre care 6 au fost rezistente. De asemenea și la cefalosporinele de generația a II-a s-a înregistrat o diferență semnificativă, care se explică prin utilizarea antibioticelor diferite, dar și a numărului de tulpini testate la ele. La cefalosporinele de generația a III-ea, s-a înregistrat o creștere a rezistenței, de la 52,38% în anul 2010, la 72,20% în anul 2013, care se datorează includerii cefiximului în anul 2013, cu un nivel de rezistență foarte înalt – 93,90%. Deși s-a înregistrat o descreștere a rezistenței la cefalosporinele de generația a IV-a, ea se datorează numărului mic de probe în anul 2010.

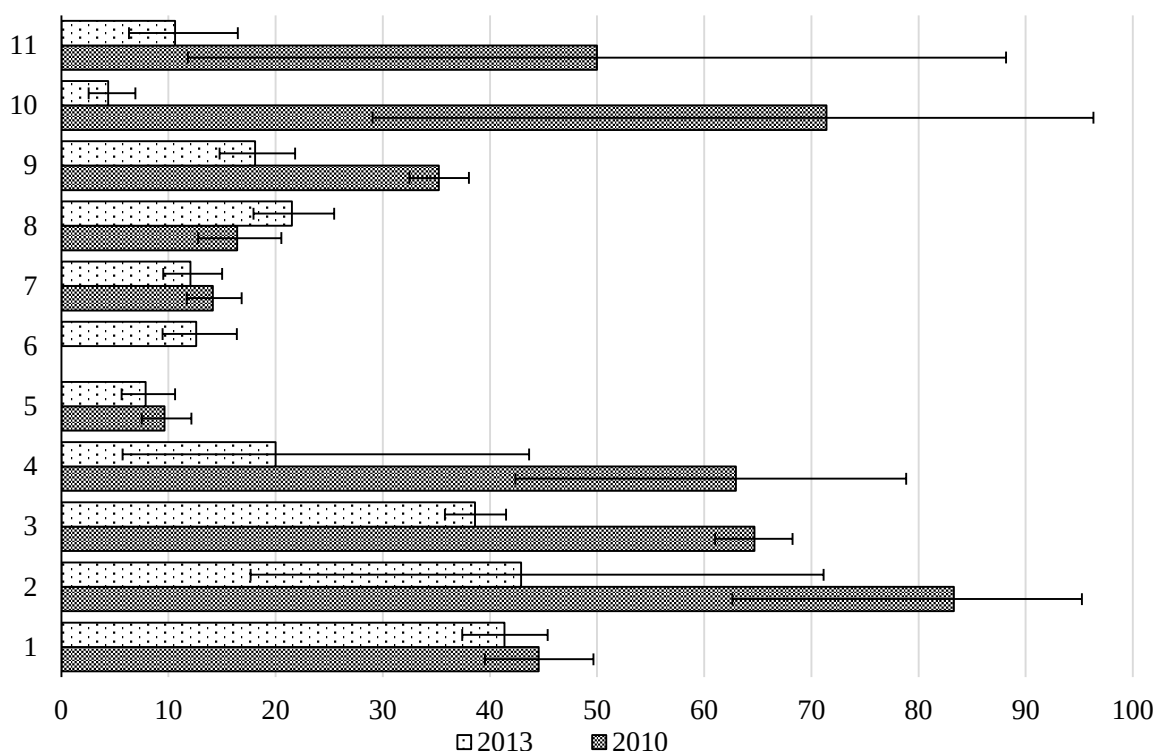


Fig. 4.20. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *S. aureus*

1) peniciline; 2) beta-lactam+inhibitor; 3) cefalosporine total; 4) peneme; 5) aminoglicozide; 6) ansamicine; 7) chinolone; 8) lincomicine; 9) macrolide; 10) vancomicină; 11) tetraciline;

Nivelul de rezistență se menține scăzut la aminoglicozide, chinolone, lincomicine și macrolide, care a variat de la 7,87% la 21,53% în anul 2013 și de la 9,64% la 35,22% în anul 2010. Variațiile nivelurilor de rezistență se datorează utilizării de antibiotice diferite, dar și a numărului de probe diferite în anii incluși în studiu (figura 4.20).

Deși tulpinile de *S. aureus* sunt foarte rar rezistente la linezolid, în anul 2010 s-au depistat 2 tulpini rezistente. De asemenea și la vancomicină, aceste tulpini sunt rar rezistente. În anul 2010 au fost depistate 5 tulpini rezistente din 7 testate, iar în anul 2013, din 388 de tulpini, 4,40% au fost rezistente. Aceste valori se datorează faptului că metoda manuală nu este recomandată pentru testarea acestor tulpini la vancomicină, deoarece rezistența la acest antibiotic nu este detectată corespunzător.

În anul 2013, au fost incluse în studiu și așa grupe de antibiotice ca antifolați, fosfomicine și fusidine, cu o sensibilitate crescută și rezistență scăzută (figura 4.20).

Un interes sporit prezintă tulpinile de *S. epidermidis*, care au avut o pondere mare în structura etiologică a ISP, atât în anul 2010, cât și în anul 2013. Spre deosebire de tulpinile de *S. aureus*, acest tulpini au manifestat o rezistență mai înaltă față de antibiotice. Un nivel de rezistență înalt se menține la peniciline, cefalosporine, iar unul mai moderat la aminoglicozide, ansamicine, chinolone, lincomicine și macrolide (figura 4.21).

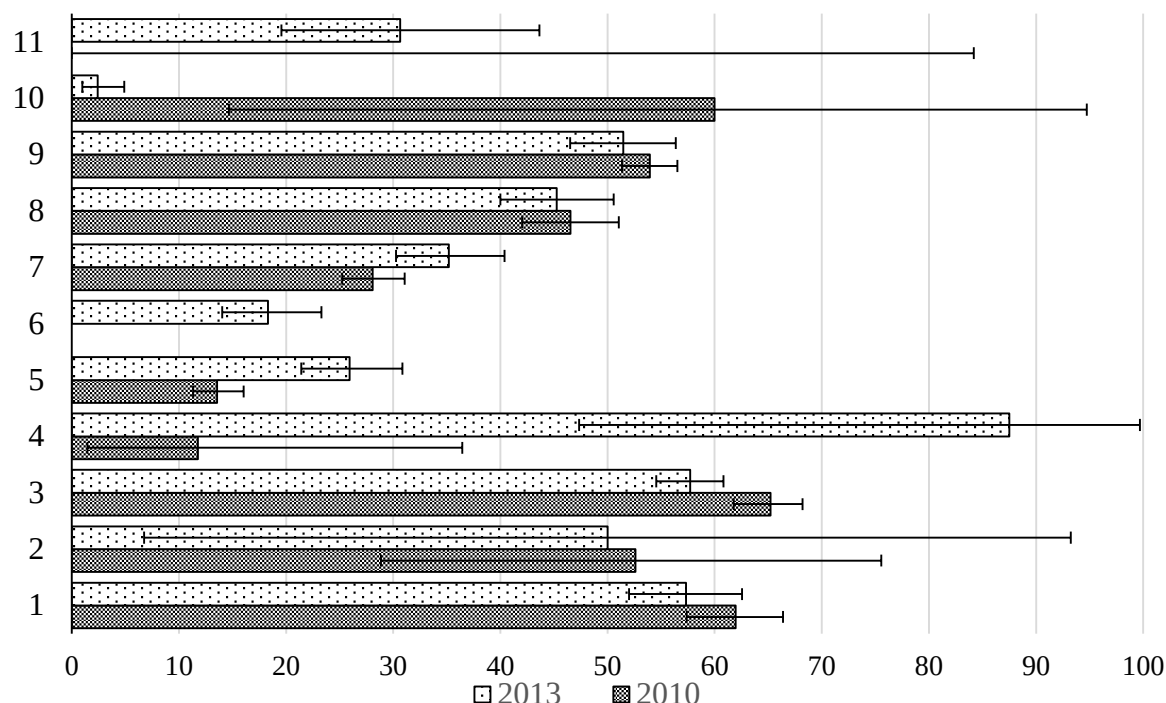


Fig. 4.21. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *S. epidermidis*

- 1) peniciline; 2) beta-lactam+inhibitor; 3) cefalosporine total; 4) peneme; 5) aminoglicozide; 6) ansamicine; 7) chinolone; 8) lincomicine; 9) macrolide; 10) vancomicină; 11) tetraciline;

Deși s-a diminuat nivelul de rezistență față de peniciline de la 61,97% în 2010, până la 57,34% în 2013 - însă diferența nu e veridică statistic ($t=1,34$, $p>0,05$). S-a înregistrat o scădere a nivelului de rezistență la cefalosporine, de la 65,20% în anul 2010, până la 57,71% în anul 2013 ($t=2,60$, $p<0,05$). Totodată, în funcție de generația cefalosporinelor, s-a observat că are loc o descreștere a rezistenței la cefalosporinele de generația I-a, II-a și a IV-a, însă o creștere a rezistenței la cele de generația a III-ea, de la 40,91% în anul 2010, până la 78,02% în anul 2013, datorită utilizării de antibiotice diferite din această grupă. Cât privește diferența semnificativă a rezistenței la cefalosporinele de generația a IV-a, aceasta se datorează faptului că în anul 2010 au fost testate doar 3 tulpini.

Rezultatele studiului au constatat o creștere a rezistenței tulpinilor de *S. epidermidis* față de aminoglicozide și chinolone, de la 13,55% și 28,08%, respectiv, în anul 2010 la 25,93% și 35,20% respectiv, în anul 2013. Cât privește nivelul de rezistență la lincomicine și macrolide, se menține stabil în dinamica multianuală, care a fost de 46,53% și 53,95% respectiv, în anul 2010, iar în anul 2013 de 45,25% și 51,46%, respectiv (figura 4.21).

Nivelul de rezistență față de vancomicină se menține foarte scăzut în dinamica multianuală. În anul 2013, din 290 tulpini testate, doar 7 au fost rezistente, iar în anul 2010 din 5 tulpini testate, 3 au fost rezistente.

La ansamicine, antifolați și fosfomicine tulpinile de *S. epidermidis* au fost testate doar în anul 2013, nivelul de rezistență la ele variind de la 10,90% la 25,50%.

Deși tulpinile de *S. haemolyticus* au avut o pondere mică în structura etiologică a ISP, în special în anul 2010, cele testate în anul 2013 au avut cel mai înalt nivel de rezistență din grupul *Staphylococcus*. O rezistență înaltă, aceste tulpini au manifestat față de peniciline, cefalosporine de toate generațiile și macrolide, iar o rezistență mai moderată la lincomicine, chinolone, aminoglicozide, fosfomicine și ansamicine. În anul 2013, atât la peniciline și cefalosporine, nivelul de rezistență a fost de peste 70,0%, în special la cefalosporinele de generația a III-ea (86,50%) și cele de generația a IV-a (70,17%). La macrolide și lincomicine, de asemenea tulpinile au fost destul de rezistente: 69,80% și 49,33%. Și invers, față de glicopeptide, tulpinile date au manifestat sensibilitate sporită (96,77%) și rezistență foarte joasă (3,23%).

Spre deosebire de anul 2013, numărul de tulpini testate în anul 2010 a fost foarte mic, astfel că o concluzie obiectivă privind evoluția rezistenței în dinamica multianuală nu este posibilă.

Prezintă interes și tulpinile din genul *Streptococcus*, așa ca *S. pyogenes* și *S. viridans*, deși tulpinile de *S. viridans* au avut o pondere mai mică în structura ISP, au fost mai rezistente la antibiotice decât tulpinile de *S. pyogenes*.

S-a evidențiat un nivel de rezistență înalt al tulpinilor de *S. viridans* la peniciline, care a fost de 54,29% în anul 2010 și de 46,94% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,85$, $p>0,05$). Față de cefalosporine, în anul 2013 au fost rezistente 46,38% din tulpinile testate, însă în anul 2010 au fost testate doar 2 tulpini, care s-au dovedit a fi sensibile. Aceste microorganisme au mai fost testate și la lincomicine și macrolide, nivelul de rezistență fiind mai mic comparativ cu grupele de antibiotice descrise mai sus. Deși la lincomicine în anul 2010 au fost rezistente 9,80%, iar în 2013 - 29,17% din tulpinile testate, diferența nu e veridică statistic ($t=1,87$, $p>0,05$). Însă la macrolide s-a determinat o creștere a rezistenței de la 23,08% în anul 2010 la 40,44% în anul 2013 ($t=2,35$, $p<0,05$). Deși la vancomicină, din 45 de tulpini testate în anul 2010 – 71,10% au fost rezistente, în anul 2013 din 24 de tulpini testate doar 1 tulpină a fost rezistentă.

Din genul *Streptococcus*, cel mai frecvent au fost izolate tulpinile de *S. pyogenes*, însă au avut o sensibilitate sporită și rezistență mică la majoritatea grupelor de antibiotice, cu unele excepții. În dinamica multianuală s-a înregistrat o scădere a rezistenței la peniciline, de la 37,31% în anul 2010 la 15,60% în anul 2013 ($t=5,32$, $p<0,05$), atât la penicilina G, cât și la amoxicilină. Aparent s-a înregistrat o scădere a nivelului de rezistență la cefalosporine, însă în anul 2010 au fost un număr foarte mic de tulpini, cu un grad de rezistență de 88,24%, astfel că gradul de eroare este mare. Însă în anul 2013, numărul de probe a fost mult mai mare, iar nivelul de rezistență a fost de 15,50%.

La alte grupe de antibiotice, aceste microorganisme au avut un nivel de rezistență mai redus. Un număr de probe mai mare a fost la chinolone, lincomicine, macrolide și vancomicină (glicopeptide). Deși în anul 2010, la chinolone, acest tulpini au avut o sensibilitate sporită și rezistență mică (3,33%), în anul 2013 rezistente au fost de 13,40%, însă numărul de probe este foarte mic, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,07$, $p>0,05$). În anul 2010, nivelul de rezistență la macrolide a fost de 29,32%, iar în anul 2010 a fost de 12,22%. Însă nivelul de rezistență a scăzut doar la eritromicină, de la 37,20% în anul 2010 la 11,90% în anul 2013 și în anul 2013, din această grupă a mai fost utilizată și claritromicina, cu un nivel de rezistență de 14,20%. La oleandomicină și azitomicină, în dinamica multianuală s-a menținut un nivel scăzut de rezistență. De asemenea, s-a înregistrat o scădere a rezistenței la vancomicină, de la 10,50% în anul 2010 la 2,30% în anul 2013 ($t=2,30$, $p<0,05$).

Enterococii au o importanță majoră clinică și epidemiologică deoarece pot cauza infecții grave ca endocardite, septicemii, supurații intraabdominale și datorită faptului că sunt rezistenți în mod natural la diverse grupe de antibiotice, cum ar fi cefalosporinele și aminoglicozidele (la doze utilizate clinic) și de asemenea pot obține ușor prin transfer de fragmente genetice de la alte specii, mecanisme de rezistență la alte grupe de antibiotice. Aceste infecții sunt determinate preponderent

de 2 specii: *E. faecalis* și *E. faecium*, care reprezintă al treilea grup ca răspândire din cadrul microorganismelor gram-pozitive.

Spre exemplu, tulpinile de *E. faecalis* au fost cele mai rezistente, atât în anul 2010, cât și în anul 2013, din grupul microorganismelor gram-pozitive. Rezistență înaltă aceste tulpini au manifestat la majoritatea grupelor de antibiotice, așa ca peniciline, aminoglicozide, chinolone, antifolați, lincomicine, macrolide ș.a.

La peniciline, aceste microorganisme au avut un nivel de rezistență înalt în special în anul 2010, care a fost de 67,92%, comparativ cu 44,32% în anul 2013. Însă din această grupă, la penicilina G, nivelul de rezistență a fost cel mai înalt, în special în anul 2010 – 86,40%, iar în anul 2013 a fost de 68,40%.

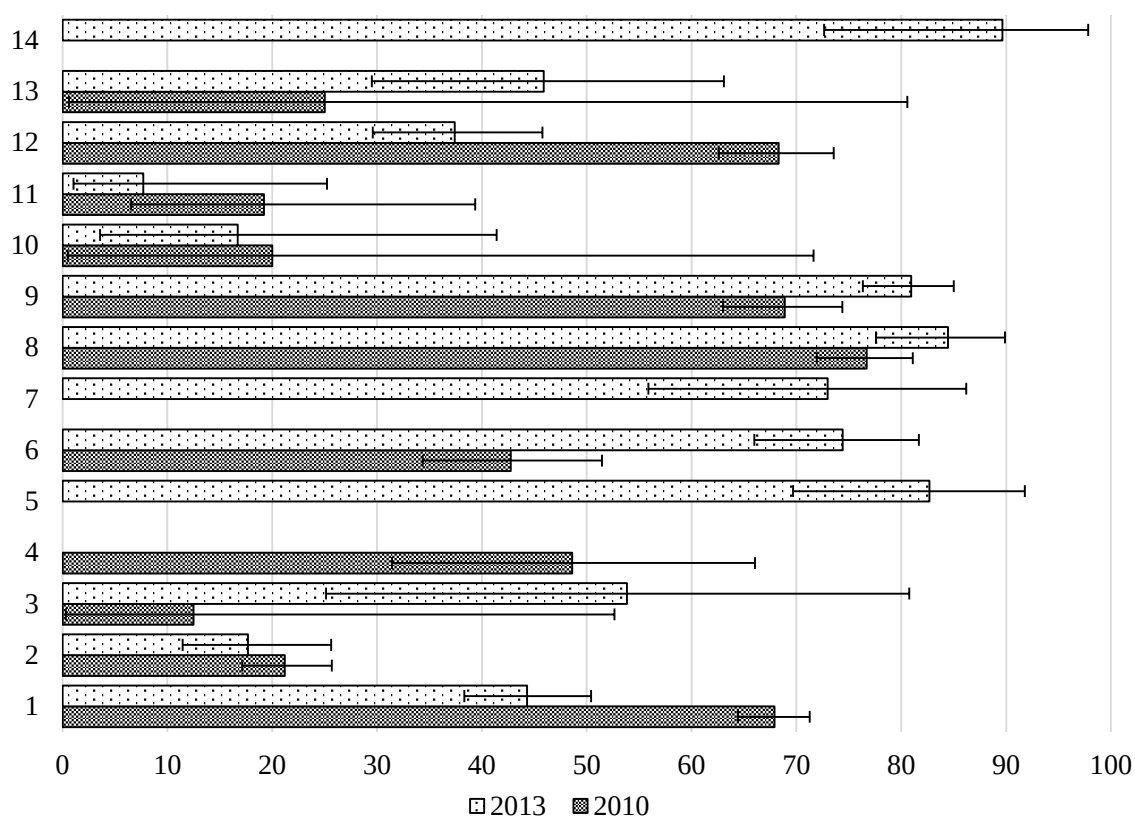


Fig. 4.22. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *E. faecalis*
 1) peniciline; 2) amoxicilină/clavulanic acid; 3) peneme; 4) aminoglicozide; 5) aminoglicozide high-level;
 6) chinolone; 7) antifolați; 8) lincomicine; 9) macrolide; 10) nitrofurane; 11) oxazolidine; 12) vancomicină;
 13) phenicols; 14) tetraciline.

Deși la ampicilină și amoxicilină, din subclasa aminopenicilinelor, rezistența acestor tulpini este rară în lume, au fost rezistente în jur de 50% din tulpini în anul 2010 și în jur de 25% în anul 2013. Nivelul de rezistență mai mic la ampicilină se explică prin testarea tulpinilor de *E. faecalis* la acest antibiotic în anul 2013 preponderent cu sistemul V2C. Rezistența la ampicilină este caracteristică îndeosebi pentru tulpinile de *E. faecium*. Astfel că valorile obținute cu metoda

manuală pot indica erori de identificare sau testare a sensibilității/rezistenței acestor microorganisme.

O diferență majoră este că în anul 2013, cu sistemul V2C a fost determinată rezistența de nivel înalt la aminoglicozide (Gentamicin-High Level și Streptomycin-High Level), care a fost prezentă la 82,70% din tulpinile testate. Astfel că în cazul infecțiilor provocate de aceste microorganisme rezistente, nu este posibil de folosit combinația dintre aminoglicozide și β -lactame sau glicopeptide. Deși cu metoda manuală, în ambii ani a fost testată sensibilitatea/rezistența la aminoglicozide, care a fost destul de înaltă, rezultatele nu au aplicație practică.

Spre deosebire, la chinolone, lincomicine și macrolide s-a înregistrat o creștere a nivelului de rezistență, care a fost de 42,75%, 76,60% și 68,90%, respectiv în anul 2010, la 74,42%, 84,46% și 80,95%, respectiv, în anul 2013 (figura 4.22).

Un interes deosebit reprezintă rezistența tulpinilor de *E. faecalis* față de vancomicină, deoarece infecțiile cauzate de VRE sunt mult mai grave și asociate cu o rată înaltă a mortalității. În anul 2010, peste 68% din tulpinile testate la vancomicină au fost rezistente, însă în anul 2013 doar 37,40%. Diminuarea rezistenței tulpinilor de *E. faecalis* față de vancomicină se explică prin faptul că în anul 2013 a fost utilizat și sistemul V2C, care a depistat doar 1 tulpină rezistentă la vancomicină. Spre deosebire, cu metoda manuală, utilizată în ambii ani, numărul de tulpini rezistente la vancomicină a fost mult mai mare. Însă conform ECDC și CDC, rezistența la vancomicină este cel mai frecvent caracteristică pentru *E. faecium*, ceea ce indică o eroare de identificare sau testare la acest antibiotic a tulpinilor de *E. faecalis*.

Din genul *Enterococcus*, un interes deosebit prezintă și tulpinile de *E. faecium*. Rezistența mai înaltă, aceste tulpini, au manifestat față de aminoglicozide, chinolone și o rezistență mai scăzută la peniciline, lincomicine, macrolide și tetraciclone. Numărul mic de tulpini testate, în special în anul 2010, nu permite de a face o concluzie obiectivă privind evoluția rezistenței în dinamica multianuală.

Un lucru pozitiv, este că se menține un nivel de rezistență foarte scăzut la vancomicină, care a constituit 20,0% în anul 2010 și 6,70% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,94$, $p>0,05$). Spre deosebire de anul 2010, cu ajutorul sistemului V2C în anul 2013, a fost testat sinergismul aminoglicozidelor cu și β -lactame sau glicopeptide, care nu a fost prezent la 90,0% din tulpinile testate. De asemenea și la chinolone, nivelul de rezistență a fost destul de înalt, atât în anul 2010 (60,0%), cât și în anul 2013 - 75,0%, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,30$, $p>0,05$) (figura 4.23).

La alte grupe de antibiotice, așa ca peniciline, beta-lactam+inhibitor și macrolide, nivelul de rezistență a rămas stabil și scăzut în dinamica multianuală.

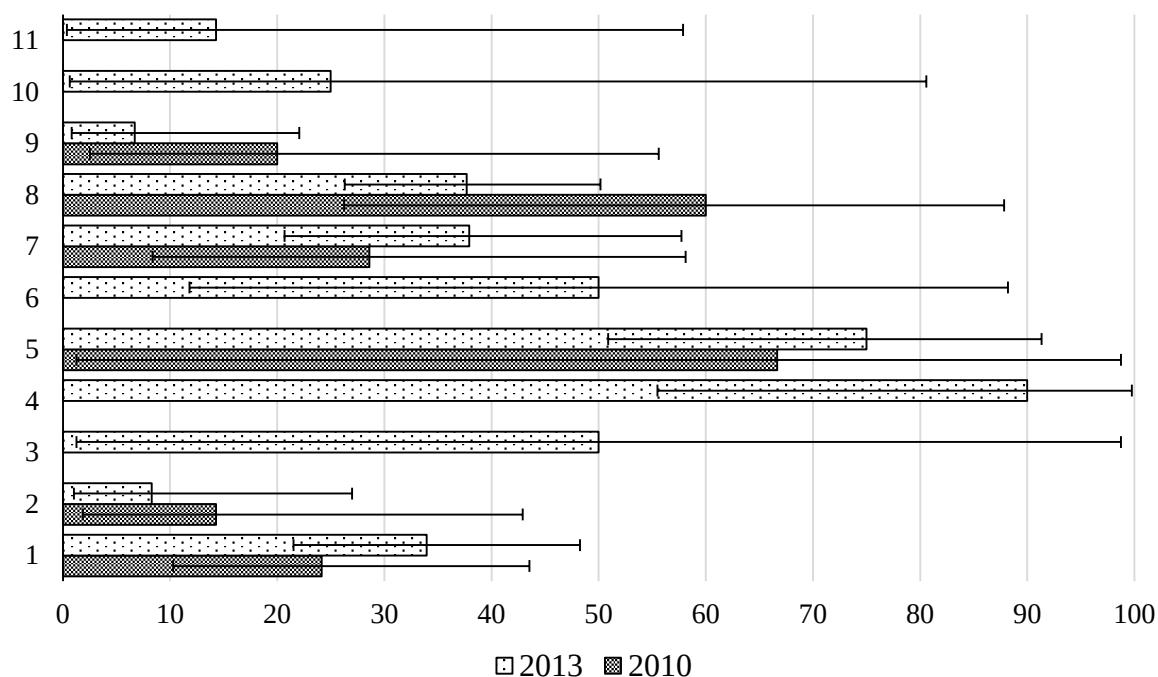


Fig. 4.23. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *E. faecium* 1) peniciline; 2) amoxicilină/clavulanic acid; 3) peneme; 4) aminoglicozide high-level; 5) chinolone; 6) antifolați; 7) lincomicine; 8) macrolide; 9) vancomicină; 10) phenicols; 11) tetraciline.

Spre deosebire de microorganismele gram-pozitive, cele gram-negative au manifestat o rezistență mai înaltă și sensibilitate scăzută la antibiotice.

Cele mai rezistente la antibiotice s-au dovedit a fi microorganismele gram-negatif nefermentative (*Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*), dar și microorganisme din familia Enterobacteriaceae, așa ca: *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. aerogenes*, *E. coli*, ș.a (tabelul 4.5).

Spre exemplu, nivelul de rezistență al tulpinilor de *Acinetobacter* spp. în dinamica multianuală, se menține la un nivel destul de înalt, de peste 80%. Un nivel de rezistență foarte înalt, aceste tulpini au manifestat față de majoritatea grupelor de antibiotice și o rezistență mai moderată la peneme, antifolați, fosfomicine.

Un nivel de rezistență foarte înalt, de peste 90%, atât în anul 2010, cât și în anul 2013, aceste tulpini au manifestat la peniciline și cefalosporine de toate generațiile, dar și la monobactame. În dinamica multianuală, o rezistență înaltă se menține și la așa grupe de antibiotice ca aminoglicozide, chinolone, nitrofurane și phenicols.

Spre exemplu, din grupul aminoglicozidelor, doar la tobramicină nivelul de rezistență a fost mai scăzut, de 51,70% în anul 2010 și de 58,80% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,74$, $p>0,05$). Spre deosebire, la amikacină și gentamicină, nivelurile de rezistență au fost de peste 75,0% în anul 2010 și de peste 85% în anul 2013 (figura 4.24).

De asemenea și la chinolone au fost rezistente peste 80% din microorganismele testate. Cea mai înaltă rezistență, din această grupă s-a înregistrat la ciprofloxacina, care a fost de 83,4% în anul 2010, cu o creștere până la 97,20% în anul 2013 ($t=3,76$, $p<0,05$). Dar rezistență înaltă, aceste tulpini au avut și la levofloxacina și gatifloxacina, care a fost de peste 60% și 79%, respectiv.

Rezistență mai moderată în anul 2013, aceste tulpini au avut doar la antifolați și fosfomicine, care a fost de 50% și 60%, respectiv. Altă grupă de antibiotice care mai poate fi utilizată pentru tratarea infecțiilor provocate de *Acinetobacter* sp. sunt penemele, la care au fost rezistente 52,50% din tulpinile testate în anul 2010 și 47,56% în anul 2013, diferența nefiind

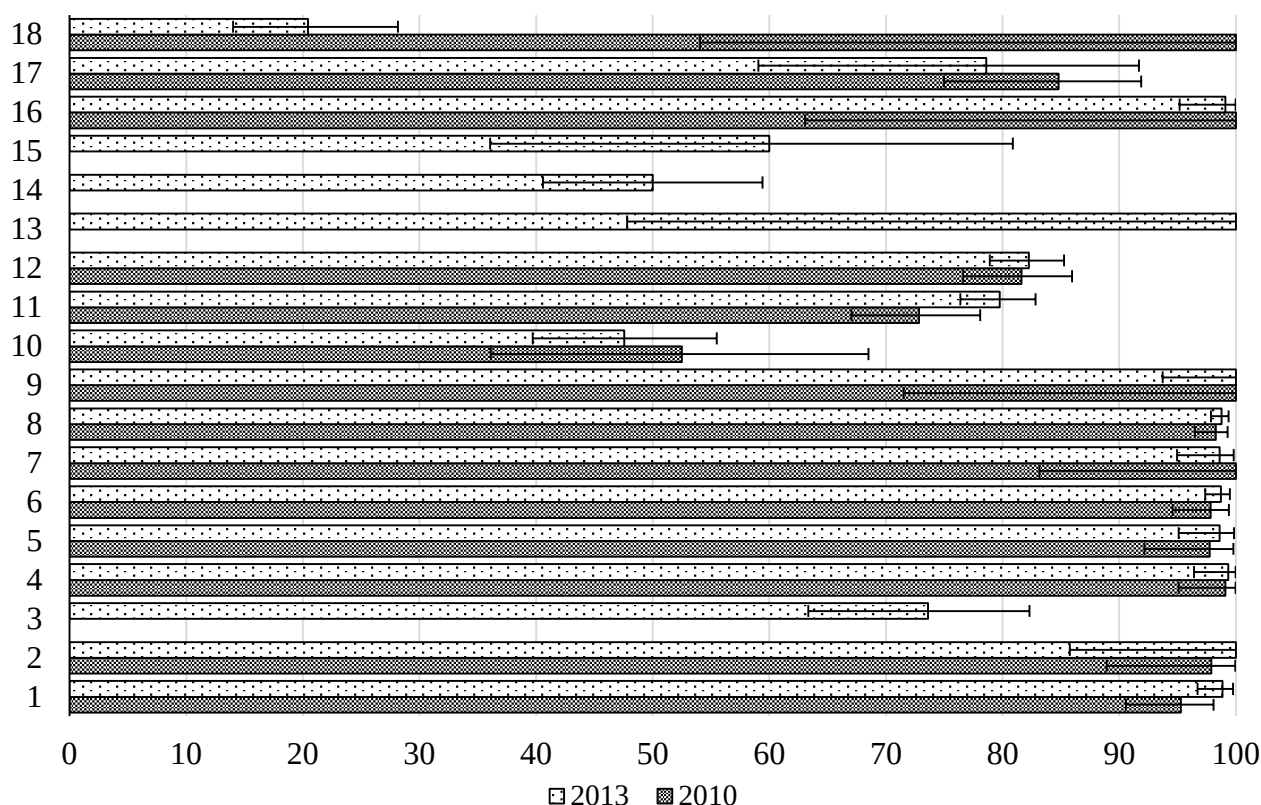


Fig. 4.24. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *Acinetobacter* spp. 1) Peniciline; 2) Amoxicilină/clavulanic acid; 3) Ampicilină/sulbactam; 4) Cefalosporine I gen.; 5) Cefalosporine II gen.; 6) Cefalosporine III gen., 7) Cefalosporine IV gen.; 8) cefalosporine total; 9) monobactame; 10) peneme; 11) aminoglicozide; 12) chinolone; 13) ansamicine; 14) antifolați; 15) fosfomicine; 16) nitrofurane; 17) phenicols, 18) tetraciclina

veridică statistic ($t=0,56$, $p>0,05$). Doar la lipopetide (colistin și polimixina B) nu au fost depistate tulpini rezistente.

O importanță clinică și epidemiologică majoră reprezintă și studierea antibioticorezistenței/sensibilității tulpinilor de *P. aeruginosa*, care au avut o pondere mare în structura ISP atât în anul 2010, cât și în anul 2013 când a ocupat locul 2 în structura generală a ISP. Aceste microorganisme au manifestat o rezistență sporită la majoritatea grupelor de antibiotice.

Rezistență înaltă, în dinamica multianuală, aceste tulpini au manifestat în special la peniciline și cefalosporine. Deși la peniciline au fost rezistente 77,94% din tulpinile testate în anul 2010 și 79,80% în anul 2013 ($t=0,45$, $p>0,05$), însă au fost utilizate antibiotice diferite pentru testarea sensibilității/rezistenței.

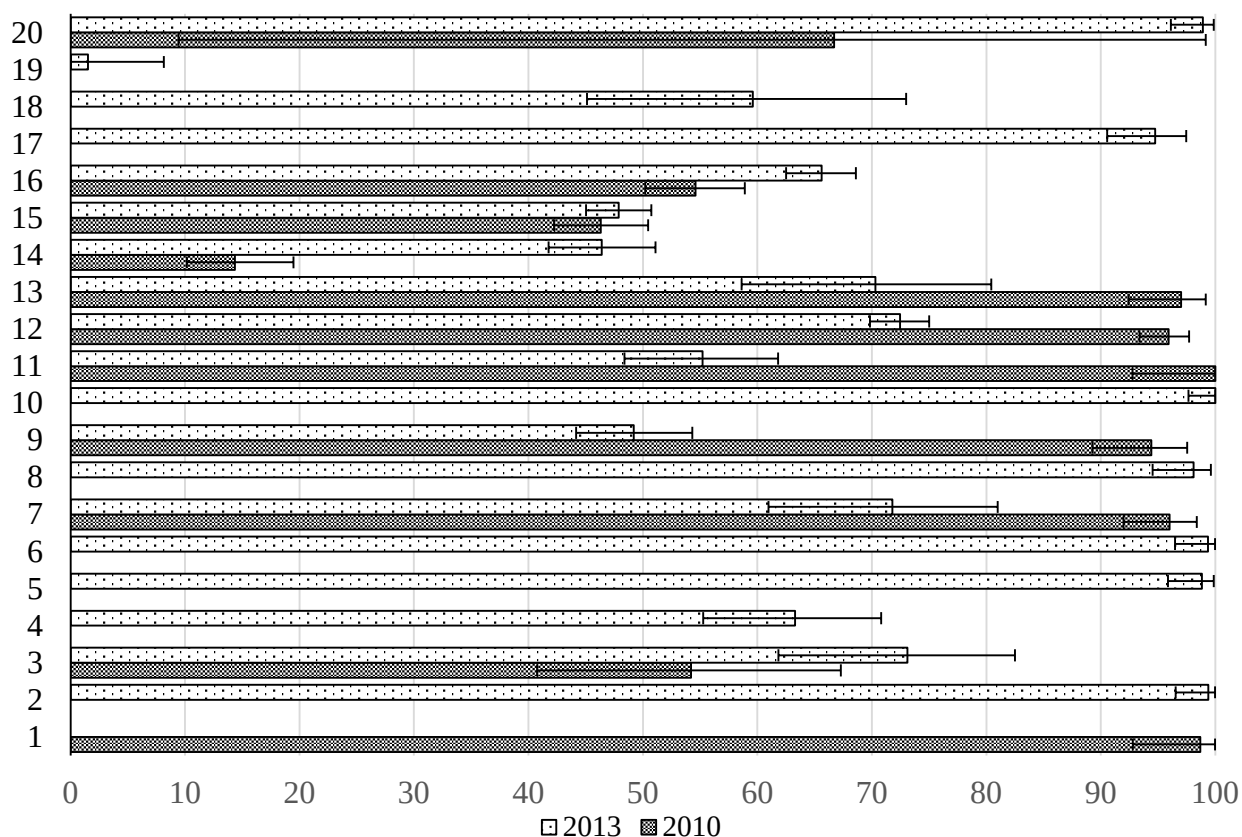


Fig. 4.25. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *P. aeruginosa* 1) amoxicilină; 2) ampicilină; 3) ticarcilină; 4) piperacilină; 5) beta-lactam+inhibitor; 6) cefalosporine I gen.; 7) cefoperazone; 8) cefoxitin, 9) ceftazidime; 10) ceftriaxone; 11) cefalosporine IV gen.; 12) cefalosporine total; 13) monobactame; 14) peneme; 15) aminoglicozide; 16) chinolone; 17) antifolați; 18) fosfomicine; 19) lipopetide; 20) nitrofurane;

De exemplu, la amoxicilină tulpinile date au fost testate doar în anul 2010, cu un nivel de rezistență de 98,70%, iar în anul 2013 au fost testate preponderent la ampicilină și piperacilină, cu un nivel de rezistență de 99,40% și 63,30%, respectiv. Deși nivelul de rezistență la cefalosporine a fost mai mic în anul 2013 (72,47%), comparativ cu anul 2010 (95,92%), în acest an tulpinile de *P. aeruginosa* au fost testate la mai puține antibiotice.

Spre exemplu, la cefalosporinele de generația I-a, tulpinile de *P. aeruginosa* au fost testate doar în anul 2013, nivelul de rezistență fiind foarte înalt – 99,36%. Din cefalosporinele de generația a II-a, în anul 2010 a fost utilizat doar cefoperazon, iar în anul 2013, adițional a fost utilizat și cefoxitinul. Din cefalosporinele de generația a III-ea, în anul 2010 a fost utilizat doar ceftazidimul,

cu o rezistență destul de înaltă (94,40%), care însă a fost de 49,20% în anul 2013, dar aceste tulpini în acest an au mai fost testate și la ceftriaxone, cefotaxime și cefixime, toate tulpinile dovedindu-se a fi rezistente. Deși s-a determinat o scădere a rezistenței la cefalosporinele de generația a IV-a, de la 100% în anul 2010 la 55,20% în anul 2013. Aceasta se explică prin testarea a doar 49 de tulpini în anul 2010 comparativ cu 223 de tulpini în anul 2013 (figura 4.25).

La alte grupe de antibiotice, așa ca peneme și chinolone s-a înregistrat o creștere a rezistenței, de la 14,35% și 54,58%, respectiv în anul 2010, la 50,33% și 65,60%, respectiv, în anul 2013, ceea ce demonstrează agravarea situației. La aminoglicozide, nivelul de rezistență s-a menținut la un nivel constant în dinamica multianuală, care a fost de 46,32% în anul 2010 și de 47,88% în anul 2013 ($t=0,62$, $p>0,05$). Doar la lipopetide, grupă la care microorganismele date au fost testate doar în anul 2013, s-a înregistrat o sensibilitate sporită (98,48%) și rezistență scăzută. Prezintă interes sporit și grupul antifolaților, cu o rezistență foarte înaltă (94,74%) în anul 2013, dar și nitrofuranele, cu un nivel de rezistență foarte înalt, în special în anul 2013 – 98,91%.

Importanță majoră reprezintă și tulpinile de *E. coli*, care au o pondere mare în structura etiologică a ISP. Rezistență înaltă, aceste tulpini au manifestat față de peniciline, în special față de ampicilină și amoxicilină din subclasa aminopenicilinelor, care a constituit 80% și 74%, respectiv, în anul 2010 și 61,30% și 73,0% - în anul 2013. De asemenea, un nivel de rezistență înalt, tulpinile de *E. coli* au manifestat și față de piperacilină în anul 2013 (57,10%) și ticarcilină, care a constituit 62,40% în anul 2010 și 69,0% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,66$, $p>0,05$). La amoxicilină/clavulanic acid și ampicilină/sulbactam, din grupul beta-lactam+inhibitor, nivelurile de rezistență au fost de peste 60%.

Spre deosebire de anul 2010, cu sistemul V2C în anul 2013 a fost determinată prezența ESBL, enzime care inactivează majoritatea penicilinelor și cefalosporinelor, care au fost prezente la 37,30% din tulpinile testate. La cefalosporine, în anul 2010 au fost rezistente 73,01% din tulpini, iar în anul 2013 de doar 36,82%, care se datorează utilizării de antibiotice diferite, dar și a numărului diferit de tulpini testate la ele. Diferențe semnificative, s-au înregistrat privitor la nivelurile de rezistență la cefalosporine de generația I și a II-a, care au fost mult mai înalte în anul 2010, în special la cefazolină (cefalosporine I gen.) și cefoxitin (cefalosporine II gen.). La cefoxitin, diferența se datorează testării la acest antibiotic a tulpinilor de *E. coli* cu sistemul V2C. De asemenea și la cefalosporinele de generația a III-ea și a IV-a, s-au observat diferențe privind nivelurile de rezistență. Aceasta se datorează faptului că tulpinile testate cu sistemul V2C în anul 2013 au avut un nivel de rezistență mai scăzut comparativ cu cele testate cu metoda manuală.

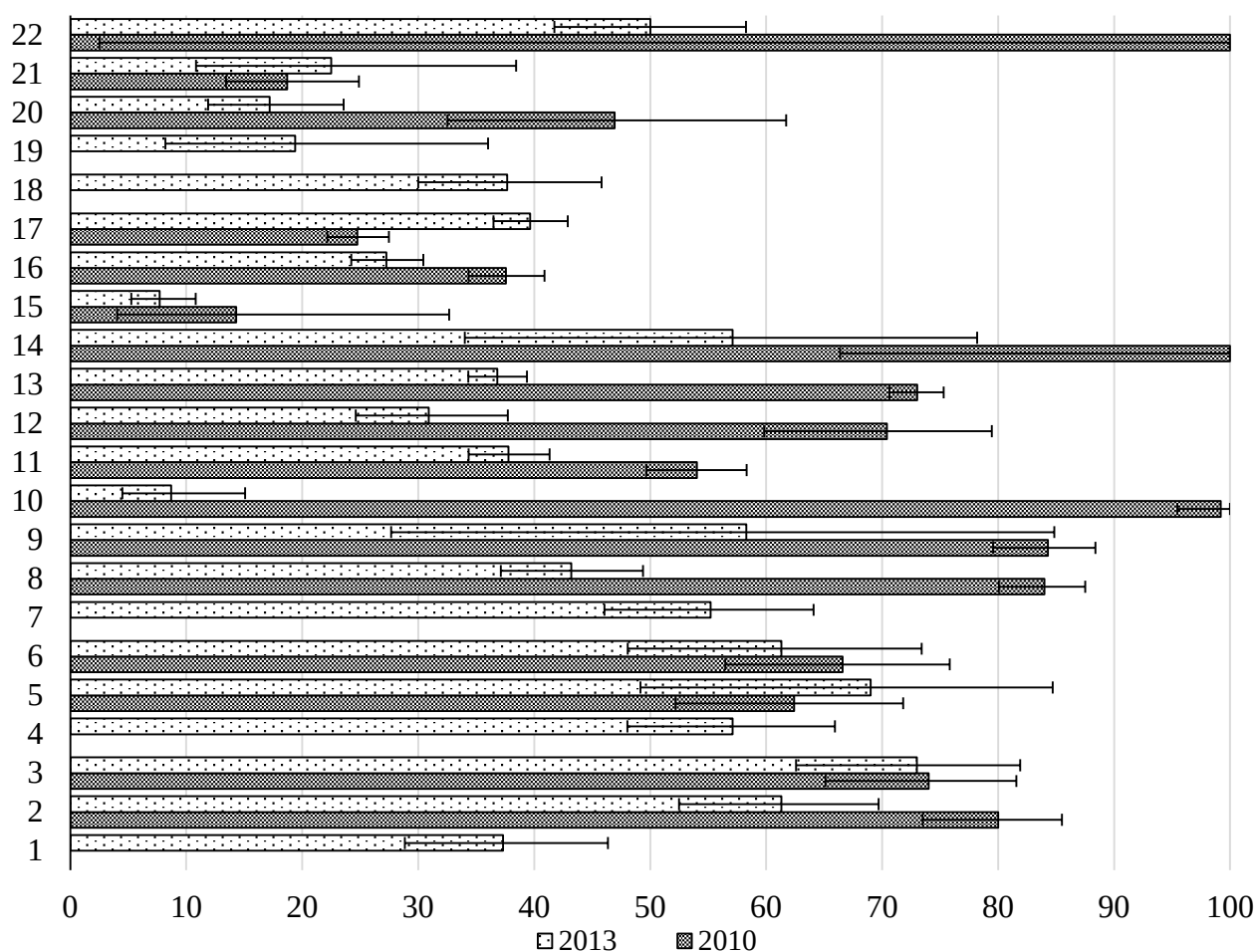


Fig. 4.26. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *E. coli*
 1) ESBL; 2) ampicilină; 3) amoxicilină; 4) piperacilină; 5) ticarcilină; 6) amoxicilină /clavulanic acid
 7) ampicilină/sulbactam; 8) cefazolină; 9) cefoperazone; 10) cefoxitin; 11) cefalosporine III gen.; 12) cefalosporine IV gen.; 13) cefalosporine total; 14) monobactame; 15) peneme; 16) aminoglicozide; 17) chinolone; 18) antifolați; 19) fosfomicine; 20) nitrofurane; 21) phenicols; 22) tetraciline;

Rezistența sporită la aceste grupe de antibiotice, impune folosirea altor antibiotice, așa ca penemele, ș.a. Nivelul de rezistență la peneme se menține scăzut în dinamica multianuală, deși în anul 2010 a fost de 14,30%, iar în anul 2013 de 7,71%, diferența nu e veridică statistic ($t=0,95$, $p>0,05$). Conform ECDC, însă rezistența la peneme este foarte joasă în rândul tulpinilor de *E. coli*.

Rezistență moderată, în dinamica multianuală se menține și la alte grupe de antibiotice, așa ca monobactame, aminoglicozide, chinolone, phenicols, tetraciline și nitrofurane, nivelurile de rezistență variind de la 17,02% la 57,10%. Spre deosebire, în anul 2013 au fost incluse în studiu și antifolați, fosfomicine la care au fost rezistente 37,66%, 19,40%, iar la lipopetide nu au fost depistate tulpini rezistente (figura 4.26).

Importanță clinică și epidemiologică, din familia Enterobacteriaceae au și tulpinile de *K. pneumoniae*, care au avut un nivel de rezistență înalt, dar și pondere mare în structura etiologică a

ISP. În dinamica multianuală, un nivel de rezistență înalt se menține la majoritatea grupelor de antibiotice. Rezistență mai redusă, aceste tulpini au avut doar la peneme, în anul 2010 a fost de 14,30%, iar în anul 2013 de 17,92%, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,50$, $p>0,05$). Rezistență foarte înaltă tulpinile date au avut la peniciline, care a fost de peste 90%, însă în anul 2013, din această grupă au mai fost incluse ampicilina și piperacilina, de asemenea cu o rezistență foarte înaltă, de 97,80% și 82,90%, respectiv (figura 4.27)

Deosebire esențială față de anul 2010, a fost că în anul 2013 a fost determinată prezența enzimelor ESBL, care spre deosebire de tulpinile de *E. coli*, au fost prezente la 71,60% din tulpinile testate cu sistemul V2C. În dinamica multianuală, nivelul de rezistență se menține înalt și la cefalosporine, în special la cefazolină (cefalosporine gen. I-a), care a fost de 96,10% în anul 2010 și de 83,10% în anul 2013, dar și la cefoperazone (cefalosporine gen. II-a). Spre deosebire, la cefoxitin (cefalosporine gen. II-a), în anul 2010 au fost rezistente 98,40%, iar în anul 2013 doar 22,20%, deoarece în acest an tulpinile de *K. pneumoniae* au fost testate preponderent la acest

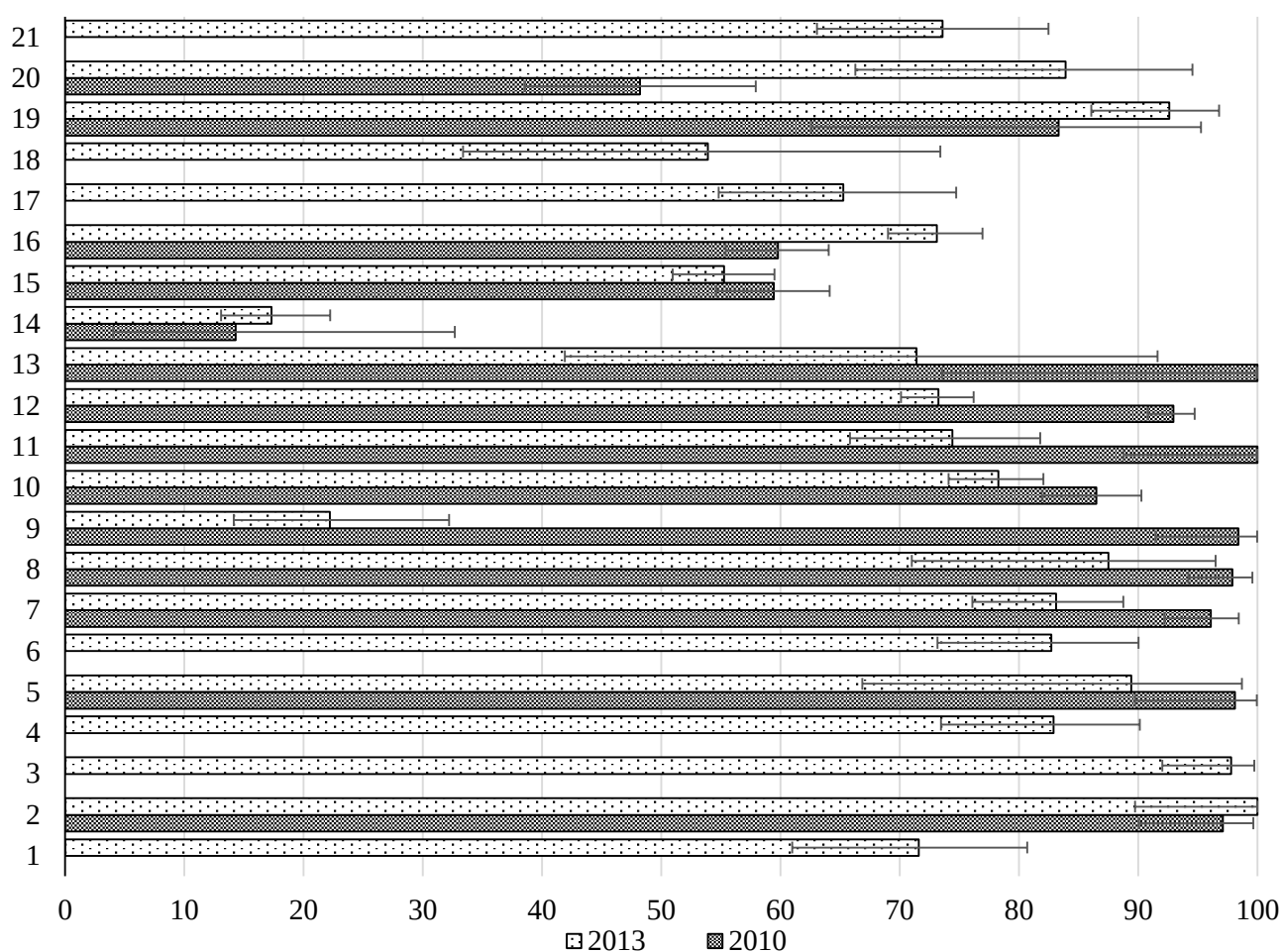


Fig. 4.27. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *K. pneumoniae* 1) ESBL; 2) amoxicilină; 3) ampicilină; 4) piperacilină; 5) amoxicilină /clavulanic acid 6) ampicilină/sulbactam; 7) cefazolină; 8) cefoperazone; 9) cefoxitin; 10) cefalosporine III gen.; 11) cefalosporine IV gen.; 12) cefalosporine total; 13) monobactame; 14) peneme; 15) aminoglicozide; 16) chinolone; 17) antifolați; 18) fosfomicine; 19) nitrofurane; 20) phenicols; 21) tetracicline;

antibiotic cu sistemul V2C. Îndeosebi în anul 2013, cel mai frecvent tulpinile date, însă au fost testate la cefalosporinele de generația a III-ea, nivelul de rezistență fiind de 86,48% în anul 2010 și 78,26% în anul 2013.

Rezistență foarte înaltă, aceste tulpini au avut și la monobactame, nitrofurane, phenicols și tetracicline. La alte grupe importante de antibiotice, de asemenea au fost rezistente peste 50% din tulpinile testate. Dacă la aminoglicozide, nivelul de rezistență a rămas constant, la valorile de 59,44% în anul 2010 și de 55,25% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=1,31$, $p>0,05$), atunci la chinolone a crescut de la 59,77% în anul 2010 la 73,11% în anul 2013 ($t=4,55$, $p<0,05$). Doar la lipopetide, utilizate în anul 2013, nu au depistate tulpini rezistente (figura 4.27).

Deși tulpinile de *K. oxytoca* au avut o pondere mică în structura etiologică a ISP, ele sunt producătoare de enzime ESBL, prezența cărora a fost confirmată la 4 din 17 tulpini testate în anul 2013 cu sistemul V2C. Deoarece în anul 2013, aceste tulpini au fost testate preponderent cu sistemul V2C, ele s-au dovedit a avea un nivel de rezistență mai redus. De asemenea și datorită numărul mic de tulpini testate în ambii ani, sunt prezente variații privind nivelurilor de rezistență la antibiotice.

Rezistență mai înaltă, tulpinile testate în anul 2010 au manifestat la amoxiclină (100%) și la cefalosporinele de generația I-a (96,30%) și a II-a (94,12%). Rezistență moderată au manifestat la cefalosporinele de generația a III-ea (63,16%) și IV-a (66,70%), dar și la aminoglicozide (44,07%), chinolone (35,62%) și phenicols (33,30%).

Spre deosebire, tulpinile testate în anul 2013 au fost mai rezistente doar la ampicilină (82,40%), cefazolină (75,0%) și nitrofurane (55,60%). Rezistență scăzută, aceste tulpini au avut la beta-lactam+inhibitor (27,78%), cefalosporine generația III-ea (24,44%) și a IV-a (20%), aminoglicozide (15,52%), chinolone (20,83%). Spre deosebire de alte tulpini din familia Enterobacteriaceae, tulpinile de *K. oxytoca* nu au fost rezistente la peneme.

Din familia Enterobacteriaceae, cu o importanță majoră și o rezistență crescută la antibiotice are genul *Enterobacter*, dintre care în patologia umană mai frecvent sunt implicate tulpinile de *E. cloacae* și *E. aerogenes*, ultimele dovedindu-se a fi mai rezistente la antibiotice.

Tulpinile de *E. aerogenes* au avut un nivel de rezistență mai înalt în special la peniciline, atât în anul 2010 (88,33%), cât și în anul 2013 (87,04%), diferența nefiind veridică statistic ($t=0,20$, $p>0,05$), dar și la cefalosporine, îndeosebi în anul 2010 (87,50%), iar în anul 2013 a fost de 68,50%. Cel mai înalt nivel de rezistență s-a înregistrat la cefalosporinele de generația a II-a, atât în anul 2010 (90,41%), cât și în anul 2013 (80,71%), diferența nefiind veridică statistic ($t=1,12$, $p>0,05$), urmate de cele de generația a III-ea, cu valoarea de 85,51% în anul 2010 și de 66,50% în anul 2013. Diferența se datorează atât testării acestor tulpini în anul 2013 și cu sistemul V2C, dar

și a numărului de probe mai mare. Spre deosebire, la cefalosporinele de generația a IV-a, în anul 2010 au fost rezistente 90,50% din tulpini, iar în anul 2013 doar 22,20%, însă în anul 2013 toate tulpinile testate cu sistemul V2C la acest antibiotic au fost toate sensibile.

Spre deosebire de alte tulpini din familia Enterobacteriaceae, la peneme au fost rezistente doar 8,33% din tulpini în anul 2010 și 12,33% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,43$, $p>0,05$). Deși la aminoglicozide și chinolone, nivelurile de rezistență au fost mai înalte în anul 2010 – 66,04% și 52,21%, respectiv, iar în anul 2013 de 50,83% și 39,53%, respectiv, diferențele se datorează faptului că tulpinile testate în anul 2013 cu sistemul V2C au avut o rezistență foarte joasă la aceste grupe de antibiotice.

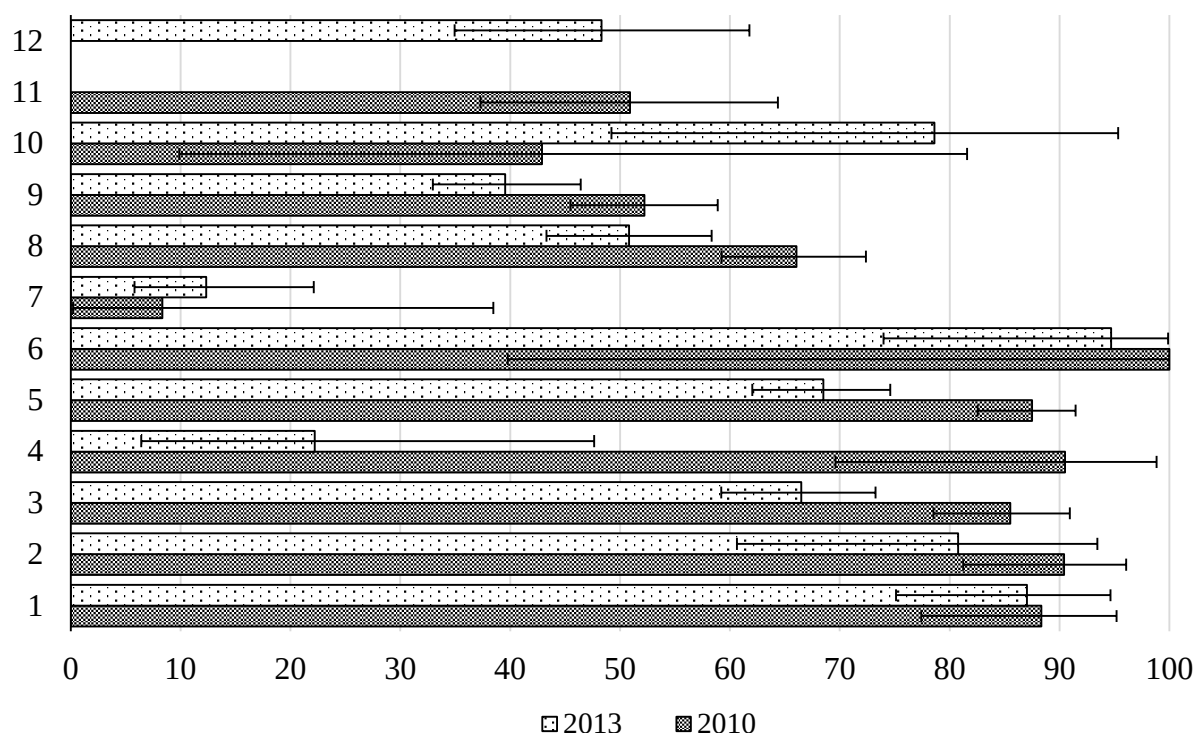


Fig. 4.28. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *E. aerogenes* 1) peniciline; 2) cefalosporine II gen.; 3) cefalosporine III gen.; 4) cefalosporine IV gen.; 5) cefalosporine total; 6) monobactame; 7) peneme; 8) aminoglicozide; 9) chinolone; 10) nitrofurane;

Rezistență moderată, aceste tulpini au avut în ambii ani incluși în studiu la nitrofurane, phenicols și tetraciline, iar sensibilitate sporită (80%) în anul 2013 la antifolați (figura 4.28).

Tulpinile de *E. cloacae* au avut o rezistență mai înaltă la amoxicilină (82,20%) și ticarcilină (77,80%) în anul 2010, iar în anul din peniciline a fost inclusă piperacilina, cu un nivel de rezistență de 53,40%. De asemenea și la cefalosporine, nivelul de rezistență a fost înalt, în special în anul 2010 (85,17%), comparativ cu anul 2013 (61,23%). Diferența se datorează că în anul 2013, majoritatea tulpinilor au fost testate cu sistemul V2C. Cât privește nivelul de rezistență în funcție

de generația cefalosporinelor, cel mai înalt a fost la cele de generația I-a (97,30%), urmate de cele de generația a II-a cu peste 90%. Diferențe semnificative s-au înregistrat la cefalosporinele de generația a III-ea și a IV-a, care a fost de 80,70% și 100%, respectiv, în anul 2010, iar în anul 2013 de 50,82% și 22,20%, respectiv.

La peneme, au fost rezistente doar 10% din tulpinile testate în anul 2010 și 8,70% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic ($t=0,17$, $p>,05$). În dinamica multianuală, s-a determinat o scădere a rezistenței la aminoglicozide și chinolone, de la 51,15% și 43,23%, respectiv, în anul 2010, la 29% și 14,10%, respectiv, în anul 2013. Rezistență moderată, aceste tulpini au avut la

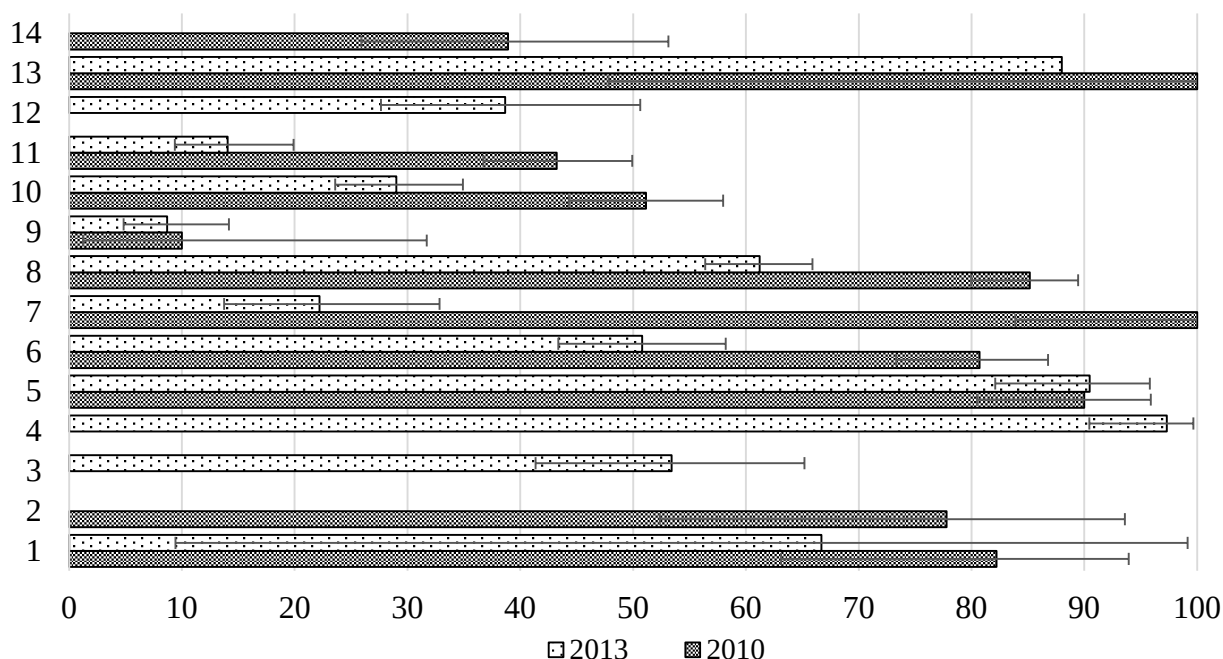


Fig. 4.29. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *E. cloacae*
 1) amoxicilină; 2) ticarcilină; 3) piperacilină; 4) cefalosporine I gen.; 5) cefalosporine II gen.;
 6) cefalosporine III gen.; 7) cefalosporine IV gen.; 8) cefalosporine total; 9) peneme; 10)
 aminoglicozide; 11) chinolone; 12) antifolați; 13) monobactame; 14) nitrofurane;

phenicols și antifolați, iar în anul 2013 la fosfomicine și lipopeptide, toate tulpinile au fost sensibile (figura 4.29).

Tulpinile de *C. freundii* sunt responsabile de o varietate mare de infecții nosocomiale, în special a tractului respirator, urinar. Datorită numărului mic de tulpini testate îndeosebi în anul 2013, e dificil de a face o comparație privind evoluția rezistenței în dinamica multianuală. Rezistență mai înaltă, aceste tulpini au manifestat la peniciline și cefalosporine, iar antibioticele care rămân mai active împotriva acestor microorganisme sunt penemele, aminoglicozidele și chinolonele.

Din familia Enterobacteriaceae, un alt gen cu importanță clinică și epidemiologică este *Proteus*, din care mai frecvent în patologia umană sunt implicate tulpinile de *P. mirabilis*, *P. rettgeri* și *P. vulgaris*.

Spre deosebire de anul 2010, ponderea tulpinilor de *P. mirabilis* a crescut în anul 2013. Nivel de rezistență mai înaltă, aceste tulpini au avut în special la peniciline și cefalosporine, dar și la monobactame, aminoglicozide și chinolone. Doar la peneme, aceste tulpini au manifestat o rezistență mai mică, care a fost în jur de 20% în ambii ani.

La peniciline, nivelul de rezistență se menține destul de înalt, în anul 2010 a fost de 76,14% iar în anul 2013 de 79,50%. Spre deosebire în anul 2010, din grupul beta-lactam+inhibitor a fost utilizat doar amoxicilina/clavulanic acid, cu un nivel de rezistență de 80%, iar în anul 2013 a fost de 50%, însă a mai fost utilizată și combinația ampicilină/sulbactam, cu un nivel de rezistență de 71,70%.

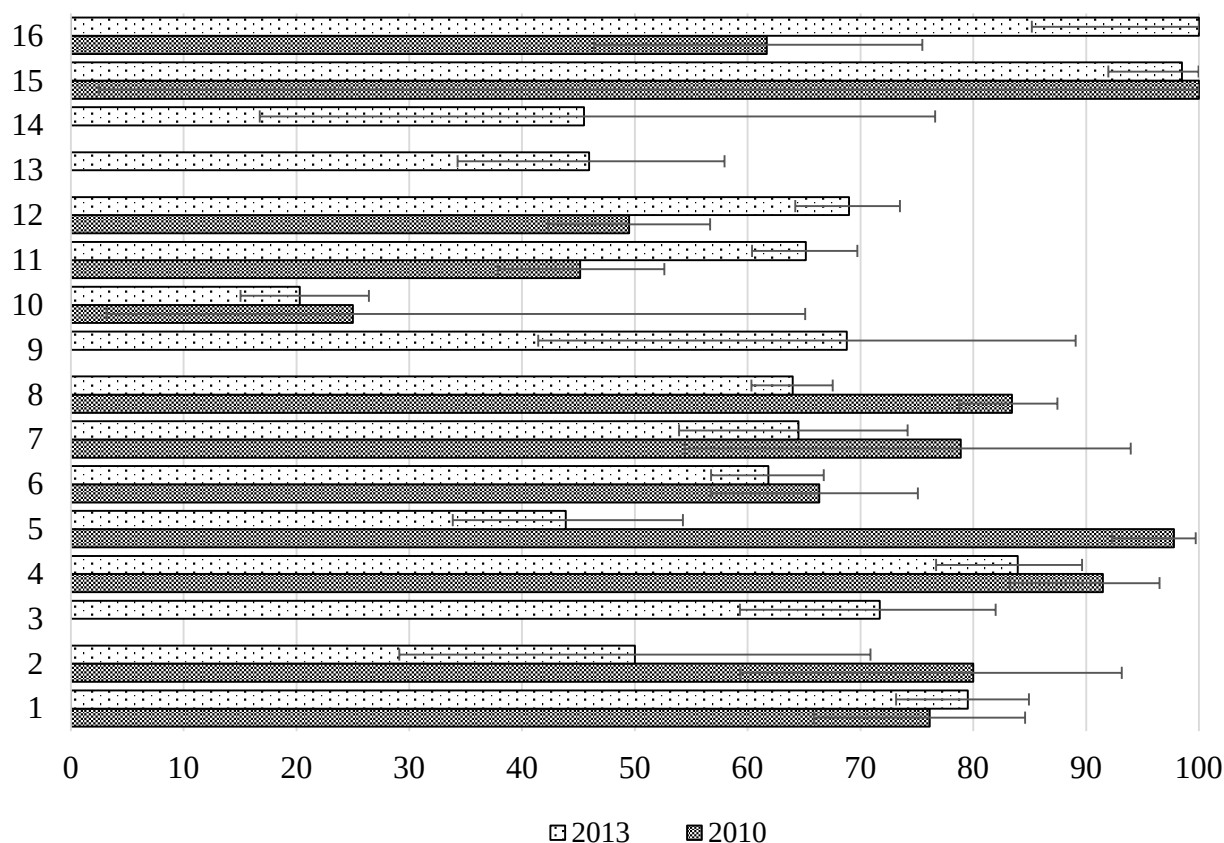


Fig. 4.30. Evoluția în dinamica multianuală a antibioticorezistenței tulpinilor de *P. mirabilis*
 1) peniciline; 2) amoxicilină/clavulanic acid; 3) ampicilină/sulbactam; 4) cefalosporine I gen.; 5) cefalosporine II gen.; 6) cefalosporine III gen.; 7) cefalosporine IV gen.; 8) cefalosporine total; 9) monobactame; 10) peneme; 11) aminoglicozide; 12) chinolone; 13) antifolați; 14) fosfomicine; 15) nitrofurane; 16) phenicols

La cefalosporine, de asemenea nivelul de rezistență a fost înalt, în anul 2010 fiind de 83,44%, iar în anul 2013 de 64,0%, însă numărul de probe în acest an a fost mult mai mare. Din această grupă, aceste tulpini în anul 2010 au fost mai rezistente la cefalosporinele de generația I-a (91,50%) și cele de generația a II-a (97,80%). Însă în anul 2013, mai rezistente au fost la cefalosporinele de generația I-a (83,94%) și a IV-a (64,50%).

În dinamica multianuală, se menține o rezistență moderată la aminoglicozide și chinolone, care a fost de 45,16% și 49,59%, respectiv, în anul 2010 și de 65,16% și 69,00%, respectiv, în anul 2013. Antifolații și fosfomicinele au fost utilizate doar în anul 2013, nivelul de rezistență fiind de 45,95% și 45,50%, respectiv. Spre deosebire de anul 2010, când la phenicols au fost rezistente 61,70% din tulpini, în anul 2013 toate tulpinile testate au fost rezistente (figura 4.30).

Analiza evoluției în dinamica multianuală a rezistenței microorganismelor implicate în etiologia ISP a evidențiat atât lucruri comune, cât și deosebiri dintre anii incluși în studiu. Cel mai înalt nivel de rezistență, atât în anul 2010, cât și în anul 2013, microorganismele testate au avut la peniciline, cefalosporine, monobactame, nitrofurane, iar o rezistență mai moderată la așa grupe ca aminoglicozide, chinolone, lincomicine, macrolide. Rezistență mai joasă au avut în special la oxazolidine și glicopeptide, în special în anul 2013.

Nivelul de rezistență la peniciline a fost de 65,41% în anul 2010, iar în anul 2013 de 59,67%. Spre deosebire, nivelul de rezistență la beta-lactam+inhibitor a fost de 37% în anul 2010 și de 54,56% în anul 2013, însă în acest an au fost incluse în studiu mai multe antibiotice din acest grup. S-au înregistrat și diferențe privind rezistența microorganismelor la cefalosporine, astfel că în anul 2010 a fost de 79,37%, pe când în anul 2013 de 57,41%. Această diferență se datorează utilizării sistemului V2C în anul 2013, dar și a variației antibioticelor utilizate pentru testarea rezistenței/sensibilității tulpinilor la antibiotice, lucruri care au fost descrise mai sus.

În anul 2013, din 231 de microorganisme gram-negative testate privind prezența ESBL, 49,40% au fost producătoare, enzimă care inactivează majoritatea antibioticelor β -lactamice. Nivelul de rezistență la monobactame a fost destul de înalt atât în anul 2010 (97,90%), cât și în anul 2013 (78,90%). Spre deosebire, nivelul de rezistență la peneme se menține scăzut, în anul 2010 a fost de 21,10%, iar în anul 2013 de 23,85%. În anul 2013, microorganismele din genul *Enterococcus* au fost testate privind rezistența de nivel înalt la aminoglicozide, care a fost de 73,70%. Însă au fost testate și la restul aminoglicozidelor, nivelul de rezistență fiind de 42,15% în anul 2013, iar în anul 2010 de 36,67%. Un nivel moderat de rezistență, tulpinile de microorganisme implicate în etiologia ISP au avut și la chinolone, lincomicine și macrolide, care a fost de 37,10%, 40,0% și 45,82%, respectiv, în anul 2010, și de 49,60%, 36,57% și 39,31%, respectiv, în anul 2013.

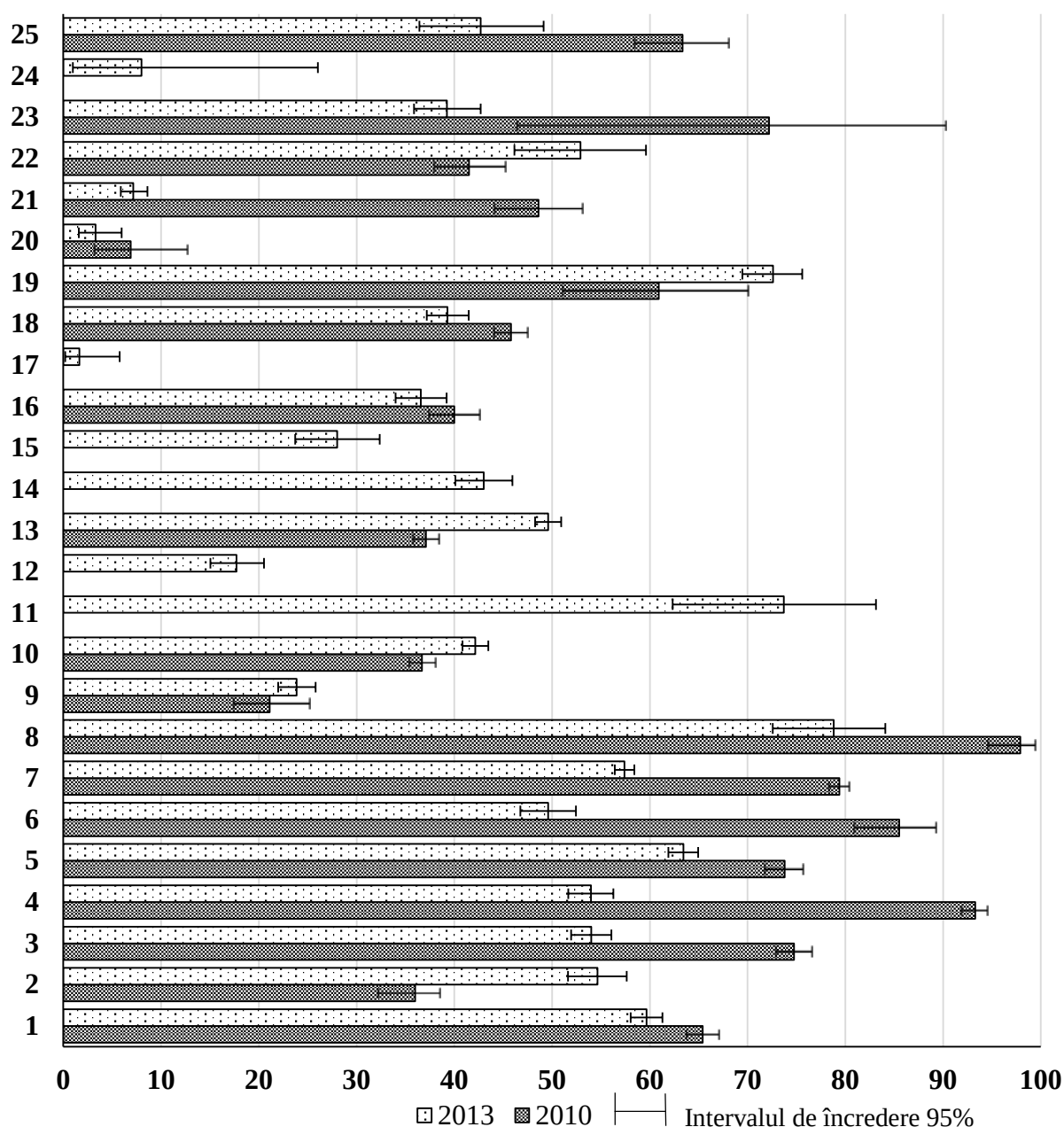


Fig. 4.31. Evoluția în dinamica multianuală a nivelului de rezistență a microorganismelor testate în anul 2010 și 2013 în funcție de grupa antibioticelor: 1) Peniciline, 2) Beta-lactam+inhibitor, 3) Cefalosporine I gen., 4) Cefalosporine II gen., 5) Cefalosporine III gen., 6) Cefalosporine IV gen., 7) Total Cefalosporine, 8) Monobactame, 9) Peneme, 10) Aminoglicozide, 11) aminoglicozide high-level; 12) Ansamicine, 13) Chinolone, 14) Antifolați, 15) Fosfomicine, 16) Lincomicine, 17) Lipopetide, 18) Macrolide, 19) Nitrofurane, 20) Oxazolidine, 21) Glicopeptide, 22) Phenicol, 23) Tetraciline, 24) Fusidine, 25) Antifungice

Spre deosebire, nivelul de rezistență la glicopeptide, antibiotice care acționează doar asupra microorganismelor gram-pozitive, a fost mult mai înalt (48,60%) în anul 2010, comparativ cu anul 2013, când a fost de doar 7,15%. Această diferență se datorează utilizării în anul 2010 doar a metodei manuale, care nu e recomandată pentru testarea sensibilității/rezistenței microorganismelor gram-pozitive la această grupă de antibiotice. Un nivel de rezistență foarte scăzut se menține

și la oxazolidine, care a fost de 6,9% în anul 2010 și de 3,3% în anul 2013, diferența nefiind veridică statistic. Doar în anul 2013, microorganismele implicate în etiologia ISP au fost testate la ansamicine, antifolați, fosfomicine, lipopeptide și fusidine, nivelurile de rezistență fiind de 17,70%, 43,0%, 28,0%, 1,63% și 8%, respectiv.

Spre deosebire de anul 2010, când la antifungice au fost rezistente 63,35% din tulpinile testate, în anul 2013 au fost rezistente doar 42,68% (figura 4.31)

Așadar, în dinamica multianuală au loc schimbări evolutive esențiale în structura etiologică a ISP, atât în ce privește creșterea numărului de specii de microorganisme – agenți cauzali ai ISP, 51 specii de microorganisme în 2010, până la 99 specii în anul 2013, cât și a creșterii ponderii microorganismelor gram-negative în structura etiologică de la 33,9% în anul 1997 până la 56,50% în anul 2013.

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. Consumul de antibiotice, rezistența microbiană și infecțiile septico-purulente nosocomiale sunt trei probleme, deși aparent distincte, sunt strâns interconectate:

- Consumul nerațional de antibiotice reprezintă cauza principală a apariției de noi mecanisme de rezistență microbiană
- Infecțiile septico-purulente nosocomiale reprezintă zona cea mai vizibilă a manifestării rezistenței microbiene la antibiotice, deoarece ele sunt cauzate cel mai frecvent de microorganisme polirezistente la antibiotice.
- Îngrijirea pacienților cu infecții septico-purulente nosocomiale presupune utilizarea mai frecventă a antibioticelor, ceea ce conduce la creșterea nivelului rezistenței microbiene față de acestea.

Pentru atingerea obiectivelor privitor la diminuarea rezistenței microbiene față de antibiotice este necesar de a elabora o strategie privind utilizarea rațională a preparatelor antimicrobiene, bazată pe informații veridice cu privire la sensibilitatea / rezistența agentului patogen, cât și nivelul de răspândire a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală.

Totodată, este necesară realizarea unei strategii multistratificate care să prevină apariția și răspândirea antibioticorezistenței și a consumului excesiv de antibiotice.

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.

Pentru a asigura o utilizare eficientă a antibioticelor este necesar de a asigura calitatea investigațiilor de laborator, care este esențială în selectarea antibioticelor. Laboratoarele trebuie să implementeze programe privind controlul calității interne și să participe în programe privind controlul calității externe. De acest lucru ar trebui să se ocupe laboratorul național de referință cu privire la problema antibioticorezistenței microbiene și a consumului de antibiotice, care să coordoneze activitatea laboratoarelor microbiologice.

Datele colectate privitor la agenții patogeni și sensibilitatea / rezistența lor la antibiotice trebuie utilizate și pentru a urmări emergența și răspândirea în cadrul staționarului a tulpinilor de microorganisme rezistente, izolarea pacienților colonizați cu aceste tulpini rezistente, pentru a preveni răspândirea acestor tulpini în cadrul staționarului. Lipsa unei monitorizări a circulației pacienților și a tulpinilor rezistente conduce la apariția focarelor și chiar a erupțiilor prin IN, ceea ce conduce la agravarea situației cu privire la antibioticorezistență, cheltuieli suplimentare, spitalizare îndelungată, tratament suplimentar cu antibiotice.

La nivelul laboratorului este necesar de a se implementa tehnologii noi, sisteme automatizate de identificare și testare a microorganismelor, cum ar fi sistemul VITEK 2 Compact, BD Phoenix, ș.a., care permit identificarea corectă dar și testarea calitativă a sensibilității microorganismelor la antibiotice. Prioritatea sistemelor automatizate constă în faptul că identifică concentrația minimă inhibitoare la care microorganismele date sunt rezistente/sensibile. De asemenea este nevoie de a respecta ghidurile privind identificarea și testarea microorganismelor la antibiotice, elaborate de către EUCAST și CLSI. Este important ca laboratorul bacteriologic să dispună de listele de antibiotice la care vor fi testate fiecare specie sau gen de microorganisme, cât și să implementeze reguli expert privind interpretarea rezultatelor antibioticogramelor.

Atingerea acestor obiective pot fi realizate în primul rând prin implementarea programului computerizat WHONET de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene, care permite crearea bazei de date și analiza lor privitor la rezultatele investigațiilor bacteriologice, microorganismele izolate și gradul lor de sensibilitate și rezistență la antibiotice, pentru fiecare pacient sau secție în parte și la nivel de instituție medicală. Informația obținută oferă posibilitatea cunoașterii situației în particular pentru fiecare pacient, formă nosologică, secție, cât și la nivel de instituție, elaborării ghidurilor privind tratamentul selectiv conform antibioticogramei, dar și empiric al infecțiilor

septico-purulente nosocomiale, care vor duce la îmbunătățirea calității tratamentului deoarece se va eficientiza selectarea antibioticelor cu scop de tratament și profilaxie potrivit agentului cauzal chiar și până la primirea antibioticogramei.

Așadar, datele obținute în urma monitorizării antibioticorezistenței microbiene pot fi folosite pentru conștientizarea problemei, sporirea interesului administrației instituției medicale, a epidemiologilor de spital, microbiologilor, personalului farmaciilor, medicilor implicați în utilizarea rațională a antibioticelor, cât și pentru achiziționarea selectivă a antibioticelor.

4.4. Concluzii la Capitolul 4

1. S-a constatat că metoda automatizată de izolare a agenților patogeni în ISP s-a dovedit a fi mai sensibilă în determinarea speciei microorganismului, în special a celor gram-negative comparativ cu metoda clasică (manuală). Prin metoda automatizată au fost identificate 76 specii de microorganisme – agenți cauzali ai ISP, comparativ cu 52 specii identificate prin metoda manuală.
2. În dinamica multianuală s-a constatat o creștere a numărului de specii de microorganisme – agenți etiologici ai ISP, cât și o creștere a ponderii microorganismelor gram-negative în structura etiologică, de la 33,9% în anul 1997 până la 56,50% în anul 2013.
3. Rezultatele monitoringului antibioticorezistenței microbiene pot fi folosite pentru conștientizarea problemei, sporirea interesului administrației instituției medicale, a epidemiologilor de spital, microbiologilor, medicilor implicați în tratamentul și profilaxia cu antibiotice, cât și pentru selecționarea selectivă 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 secțiile de chirurgie generală, anestezologie, reanimare și terapie intensivă, urologie, microchirurgie și neurochirurgie predomină microorganismele gramnegative (53,92 – 65,08%).
4. 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%.
5. 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%).
6. Structura etiologica 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 ($t=16,33$, $p<0,05$).
7. 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.

8. 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

1. Pentru eficientizarea supravegherii epidemiologice a antibioticorezistenței microbiene se recomandă de a implementa în fiecare instituție medicală sistemul automatizat de monitoring microbiologic.
2. 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 antibioticelor, 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.
3. 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.
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, nr.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, nr. 33(1), p. 1–5.
8. Blot S, et. al. Measuring the impact of multidrug resistance in nosocomial infection. Curr Opin Infect Dis 2007, nr. 20, p. 391-396.
9. Титов Л.П. Антибиотикорезистентность бактерий: Потребление анти-микробных препаратов, ассоциация с резистентностью и вирулентностью. 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.
17. Prisacari V., Leu E. Antibioticorezistența microorganismelor în infecțiile septico-purulente de profil neurochirurgical. Anale științifice USMF “Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2008, vol. 2, p. 23-29.
18. Ețco L., ș.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. Prisacari V., Berdeu I. Antimicrobial resistance in septic-purulent infections. The medical-surgical journal. Iași, România, 2013, vol. 117, nr. 2, p.457-464.
20. Prisacari 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, nr.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. Teza 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, nr. 211, p. 31–43.
25. Daneman, N., et. al. At the threshold: defining clinically meaningful resistance thresholds for antibiotic choice in community-acquired pneumonia. *Clin. Infect. Dis*, 2008, nr. 46, p. 1131–1138.
26. Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2012. 218 p.
27. Bissell, M. G. The effect of benchmarking clinical practice with the clinical laboratory. An institutional case study. *Clin. Lab. Med.*, 1999, nr. 19, p. 867–876.
28. Fridkin, S. K., et al. Monitoring antimicrobial use and resistance: comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and vancomycin-resistant enterococci. *Emerg. Infect. Dis*, 2002, nr. 8, p. 702–707.
29. Akke K. et al. The role of international travel in the worldwide spread of multiresistant Enterobacteriaceae. In: *J. Antimicrob. Chemother*, 2012, nr. 67 (9), p. 2090-2100.
30. Wright GD: Q&A: Antibiotic resistance: where does it come and what can we do about it? *BMC Biology*, 2010, 8:123
31. Laxminarayan R: Personal communication, 2013
32. Patel G, Bonomo RA: "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol*, 2013, 4:48
33. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M: Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet*, 1948, nr. 2(6530), p. 641–644
34. Johnson AP, et al. Mandatory surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in England: the first 10 years. *J Antimicrob Chemother* 2012, nr. 67(4), p. 802–809
35. Klevens RM, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* 2007, nr. 298(15), p. 1763–1771
36. Brolund A, et al. Epidemiology of ESBL-producing *Escherichia coli* in Sweden 2007–2011. *Clin Microbiol Infect*, 2013, doi: 10.1111/1469–0691.12413
37. Colpan A, et al. *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone H30 as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin Infect Dis*, 2013, nr. 57(9), p. 1256–1265
38. Patel G, et al. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 2008, nr. 29(12), p. 1099–1106
39. Smith R, Coast J. The true cost of antimicrobial resistance. *BMJ*, 2013, 346:f1493
40. Smith R, Coast J: The economic burden of antimicrobial resistance: why it is more serious than current studies suggest [report]. London: London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2012
41. Rodríguez RS. Consumo de antimicrobianos en el hospital: costos y consecuencias del uso y abuso. In: Salvatierra-González R, Benguigui Y, editors. Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención. Washington, DC: OPS/OMS, 2000. p. 246–257.

42. Alekshun, M. N., S. B. Levy.. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007, nr. 128, p.1037–1050.
43. Gale, E. F., et al. The molecular basis of antibiotic action, 2nd ed. John Wiley, Chichester, United Kingdom, 1981.
44. Marshall, B. M., D. J. Ochieng, S. B. Levy.. Commensals: unappreciated reservoir of antibiotic resistance. *Microbe*, 2009, nr. 4, p. 231–238.
45. Пхакадзе Т.Я., Бабушевич Н.К., Окропиридзе Т.Г. Микробиологический контроль инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии. Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций. – С.Петербург, 2003, с. 97-98.
46. Gniadkowski, M. Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin. Microbiol. Infect*, 2008, nr. 14(Suppl. 1), p. 11–32.
47. Barlow, M., B. G. Hall. Phylogenetic analysis shows that the OXA beta-lactamase genes have been on plasmids for millions of years. *J. Mol. Evol*, 2002, nr. 55, p. 314–321.
48. Allen, H. K., et al.. Functional metagenomics reveals diverse beta-lactamases in a remote Alaskan soil. *ISME J*, 2009, nr. 3, p. 243–251.
49. Livermore DM, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 2007, nr. 59, p. 165-174.
50. Hawkey, P. M., A. M. Jones. The changing epidemiology of resistance. *J. Antimicrob. Chemother*, 2009, nr. 64(Suppl. 1), p. i3–i10.
51. Long, K. S., et al. The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to phenicols, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilins, and streptogramin A antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2006, nr. 50, p. 2500–2505.
52. Piddock, L. J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clin. Microbiol. Rev*, 2006, nr.19, p. 382–402.
53. Depardieu, et al.. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin. Microbiol. Rev*, 2007, nr. 20, p. 79–114.
54. Nordmann, P., L. Poirel. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J. Antimicrob. Chemother*, 2005, nr.56, p. 463–469.
55. . Robicsek, A., G. A. Jacoby, D. C. Hooper. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis*, 2006, nr. 6, p. 629–640.
56. Pallecchi, L., et al. High prevalence of qnr genes in commensal enterobacteria from healthy children in Peru and Bolivia. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2009, nr. 53, p. 2632–2635.
57. Strahilevitz, J., et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev*, 2009, nr. 22, p. 664–689.
58. Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int J Med Microbiol*, 2013, nr. 303(6-7), p. 287-92.
59. Kashmiri, S. V. S., R. D. Hotchkiss. Evidence of tandem duplication of genes in a merodiploid region of pneumococcal mutants resistant to sulfonamide. *Genetics*, 1975, nr. 81, p.21.
60. Brochet, et al. A naturally occurring gene amplification leading to sulfonamide and trimethoprim resistance in *Streptococcus agalactiae*. *J. Bacteriol*, 2008, nr. 190, p. 672–680.
61. Tamae, C., et al. Determination of antibiotic hypersensitivity among 4,000 single-gene-knockout mutants of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol*, 2008, nr. 190, p. 5981–5988.
62. Fajardo, A., et al. The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PloS One* 2008, vol. 3, e1619.
63. Gottlieb, D. The production and role of antibiotics in soil. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 1976, nr. 29, p. 987–1000.

64. Doyle, M. P. Antimicrobial resistance: implications for the food system. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*, 2006, nr. 5, p.71–137.
65. Moura, A., I. Henriques, K. Smalla, A. Correia. Wastewater bacterial communities bring together broad-host range plasmids, integrons and a wide diversity of uncharacterized gene cassettes. *Res. Microbiol*, 2010, nr.161, p. 58–66.
66. Schluter, A., et al. Genetic diversity and composition of a plasmid metagenome from a wastewater treatment plant. *J. Biotechnol*, 2008, nr. 136, p. 65–76.
67. Szczepanowski, et al. Detection of 140 clinically relevant antibiotic-resistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. *Microbiology*, 2009, nr.155, p. 2306–2319.
68. Bartoloni, A., et al. Antibiotic resistance in a very remote Amazonas community. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2009, nr.33, p. 125–129.
69. Pallecchi, L., et al. Antibiotic resistance in the absence of antimicrobial use: mechanisms and implications. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*, 2008, nr. 6, p. 725–732.
70. Pallecchi, L., et al. Population structure and resistance genes in antibiotic-resistant bacteria from a remote community with minimal antibiotic exposure. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2007, nr. 51, p. 1179–1184.
71. Anderson AD, et al. Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. *Microb Drug Resist*. 2003, nr. 9, p. 373–379.
72. Angulo FJ, Nunnery JA, Bair HD. Antimicrobial resistance in zoonotic enteric pathogens. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 2004, nr. 23(2), p. 1–12.
73. Use of antimicrobials outside human medicine and resultant antimicrobial resistance in humans. World Health Organization. 2002.
74. Laxminarayan R, Brown GM. Economics of antibiotic resistance: a theory of optimal use. *J Environ Econ Manage*. 2001, nr. 42, p. 183–206.
75. Vázquez-Moreno E, et al.. Self-medication in the Mexican State of Veracruz. *J Pharm Finance, Economics and Policym*, 2004, nr. 13(2), p. 45–63.
76. Altagracia-Martínez M, et al. Automedicación en comunidades rural y urbanas del Estado de Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2003, nr. 34(2), p. 27–35.
77. Dreser A, et al. Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud Pública Méx*, 2008, nr.50(4), p. 480–487.
78. Fefer E. Uso racional de medicamentos: políticas, reglamentación y normas regionales. In: Salvatierra-González R, Benguigui Y, editors. *Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención*. Washington, DC: OPS/OMS, 2000. p. 211–219.
79. McCormick JB. Epidemiology of emerging/re-emerging antimicrobial resistant bacterial pathogens. *Curr Opin Microbiol*, 1998, nr.1, p. 125–129.
80. Sosa A. La alianza para el uso prudente de los antibióticos. Resistencia a los antibióticos en América Latina. In: Salvatierra-González R, Benguigui Y, editors. *Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención*. Washington, DC: OPS/OMS, 2000, p. 258–260.
81. Dancer SJ. How antibiotics can make us sick: the less obvious adverse effects of antimicrobial chemotherapy. *Lancet Infect Dis*, 2004, nr. 4, p. 611–619.
82. Breilh J. Nuevos conceptos y técnicas de Investigación. Guía pedagógica para un taller de metodología. Quito, Ecuador: Centro de Estudios y Asesoría en Salud, 1994. p. 19–57.
83. Boucher HW, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! an update from the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2009, nr. 48(1) p.1–12.
84. Andersson, D. I. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? *Curr. Opin. Microbiol*, 2006, nr. 9, p. 461–465.

85. Norman, A., L. H. Hansen, S. J. Sorensen. Conjugative plasmids: vessels of the communal gene pool. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*, 2009, nr. 364, p. 2275–2289.
86. Skurray, R. A., N. Firth. Molecular evolution of multiply-antibiotic-resistant staphylococci,. In D. J. Chadwick (ed.), *Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread*. Wiley, Chichester, United Kingdom, 1997, p. 167–191.
87. Springman, A. C., et al. Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *J. Bacteriol*, nr. 191, p. 5419–5427.
88. Barbe, V., et al. Unique features revealed by the genome sequence of *Acinetobacter* sp. ADP1, a versatile and naturally transformation competent bacterium. *Nucleic Acids Res*, 2004. nr.32, p. 5766–5779.
89. Perez, F., et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2007, nr. 51, p. 3471–3484.
90. Spellberg B, et al. Infectious diseases society of america; the epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2008, nr. 46(2), p.155–164.
91. Boucher HW, et al. Infectious diseases society of America. 10 x ' 20 progress–development of new drugs active against Gram-negative bacilli: an update from the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2013, nr. 56, p.1685–1694.
92. Barie PS, et al. Maximizing nosocomial infection management with newer therapeutic approaches and techniques in an era of increasing microbial resistance: a surgical perspective. 2007; [about 15 p.].
93. 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.
94. Priscari V., Sava V., Plop. T. Infecția supurativă – aspecte epidemiologice. Materialele conferinței științifice a colaboratorilor și studenților. USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 1999, p. 195.
95. 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.
96. Plugaru Șt, 2009, Ghid de supraveghere în infecțiile nosocomiale, Chișinău, 2009, p. 27-30
97. Prisacari V., Plop T. Structura etiologică în infecțiile nosocomiale septico-purulente în chirurgia abdominală. În: *Materialele Conferinței Științifice a Colaboratorilor și Studenților USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 1998, p. 180.
98. Prisacari V., Stoleicov S. Particularitățile epidemiologice și etiologice în osteita posttraumatică. În *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*, nr. 3 (7), 2006, p. 261-700.
99. Kallen AJ, Srinivasan A. Current epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010, nr. 31(Suppl 1), p. S51–S54.
100. Giske CG, et al. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, nr. 52(3), p. 813–821
101. Laupland KB, et al. Incidence, risk factors and outcomes of *Escherichia coli* bloodstream infections in a large Canadian region. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(11), p. 1041-7.
102. Underwood J, Klein JL, Newsholme W. *Escherichia coli* bacteraemia: how preventable is it? *J Hosp Infect*, 2011, 79(4), p. 364-365.

103. Sligl W, Taylor G, Brindley PG. Five years of nosocomial Gramnegative bacteremia in a general intensive care unit: epidemiology, antimicrobial susceptibility patterns, and outcomes. *Int J Infect Dis*, 2006, nr. 10(4), p. 320-325.
104. Gardiner DF, Scholand SJ, Babinchak T. Mortality and gramnegative rod bacteraemia in the intensive care unit. *J Hosp Infect*, 2006, nr. 62(4), p. 453-7.
105. Bereket W, et al. Update on bacterial nosocomial infections. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, nr. 16(8), p. 1039-44.
106. Carlet J, et al. Multidrug resistant infections in the ICU: mechanisms, prevention and treatment. In *25 Years of Progress and Innovation in Intensive Care Medicine*. 2007, p. 199-211.
107. Salgado C.D., O'Grady N, Farr B.M. Prevention and control of antimicrobial-resistant infections in intensive care patients. *Crit Care Med*, 2005, nr. 33, p. 2373-2382.
108. Cosgrove S.E. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clin Infect Dis*. 2006, nr. 42 (Suppl 2), p. S82-S89.
109. Figueiredo Costa S. Impact of antimicrobial resistance on the treatment and outcome of patients with sepsis. *Shock*, 2008, nr. 30(Suppl 1), p. 23-29.
110. Cook N. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. *Burn*, 1998, nr. 24, p. 91-98.
111. 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.
112. Consumul de antibiotice, rezistența microbiană și infecții nosocomiale în România, 2012. G-A. Popescu, A. Pistol, R. Șerban. ... p.
113. Cosgrove SE, et al. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 2003, nr. 36, p. 53-59.
114. de Kraker ME, et al. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, nr.55, p. 1598-605.
115. de Kraker ME, et al. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med*, 2011, nr. 8(10):e1001104.
116. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*, 2009, nr.7, p. 629-641.
117. Herold BC, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA*, 1998, nr. 79, p. 593– 598.
118. Kaplan SL, et al. Three-year surveillance of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children. *Clin Infect Dis*, 2005, nr. 40, p. 1785–1791.
119. Naimi TS, et al. Comparison of community- and healthcare-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*, 2003, nr. 290, p. 2976–2984.
120. Ma XX, et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, nr. 46, p. 1147–1152.

121. Ito T, et al. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, nr. 48, p. 2637–2651.
122. Hiramatsu K., et al. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, 2001, nr. 9 p. 48693.
123. Naas T, et al. Threeyear survey of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Panton-Valentine leukocidin in a French university hospital. *J Hosp Infect*, 2005, nr. 61, p. 321–329.
124. Lina G, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin–producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*, 1999, nr. 29, p. 1128 – 1132.
125. Pannaraj PS, et al. Infective pyomyositis and myositis in children in the era of community-acquired, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*, 2006, nr. 43, p. 953–960.
126. Morrison MA, et al. Case definition for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*, 2006, nr. 62, p. 241.
127. Community Associated MRSA Information for Clinicians. Infection control topics, Centers for Disease Control and Prevention, 2005.
128. Huang H, et al. Comparison of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and hospital-associated MRSA infections in Sacramento, California. *J Clin Microbiol*, 2006, nr. 44, p. 2423–2427.
129. Davis SL, et al. Characteristics of patients with healthcare-associated infection due to SCCmec type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2006, nr. 27, p. 1025–1031.
130. Klevens RM, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and healthcare risk factors. *Emerg Infect Dis*, 2006, nr. 12, p. 1991–1993.
131. Maree CM, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare-associated infections. *Emerg Infect Dis*, 2007, nr. 13, p. 236–242.
132. Kazakova SV, et al. A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. *N Engl J Med*, 2005, nr. 352, p. 468 –475.
133. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison—Mississippi, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2001, nr. 50, p. 919 –922.
134. Schreckenberger P.C., et al. Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *Staphylococcus* in a community and tertiary care hospital. *J Clin Microbiol*, 2004, nr. 42(6), p. 2777-2779.
135. Berdeu. I. Antimicrobial resistance/sensitivity of microorganisms mostly involved in the etiology of septic-purulent infections. În *MedEspera 2014: 5th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chişinău, 2014, p. 264-265.
136. Howden BP, et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 2010, nr. 1: p. 99-139.
137. Arias CA, Murray BE. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2008, nr. 6(5), p. 637-655.
138. Molton JS, et al. The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria: a perspective from Asia. *Clin Infect Dis*, 2013, nr. 56 (9), p. 1310-1318.

139. Orsi GB, et al. Surveillance and management of multi-drug resistant microorganisms. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2011, nr. 9(8), p. 653-79.
140. Jones RN. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. *Chest*, 2001, nr. 119, p. 397S-404S.
141. Arias CA, Murray BE. Enterococcus species, Streptococcus bovis group and Leuconostoc species. *Principles and practice of Infectious Diseases*. Vol. 2. 7th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Churchill Livingstone, 2010, p. 2643-53.
142. Gavaldà J, et al. Brief communication: treatment of Enterococcus faecalis endocarditis with ampicillin plus ceftriaxone. *Ann Intern Med*, 2007, nr. 146, p. 574-579.
143. Mazuski JE. Vancomycin-resistant enterococcus: risk factors, surveillance, infections, and treatment. *Surg Infect*, 2008, nr. 9, p. 567-571.
144. Tenover FC, McDonald LC. Vancomycin-resistant staphylococci and enterococci: epidemiology and control. *Curr Opin Infect Dis*, 2005, nr. 18, p. 300-305.
145. Bonten MJ, Mascini EM: The hidden faces of the epidemiology of antibiotic resistance. *Intensive Care Med*, 2003, nr. 29, p. 1-2.
146. Depardieu F, et al. Detection of the van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 2004, nr. 42, p. 5857-5860.
147. Boyd DA, et al. Molecular characterization of Enterococcus faecalis N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, nr. 52, p. 2667-2672.
148. Xu X, et al. vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in Enterococcus faecium. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, nr. 54, p. 4643-4647.
149. Lebreton F, et al. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in Enterococcus faecium. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, nr. 55(10), p. 4606-4612.
150. Leclercq R. Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci. *Clin Microbiol Infect*, 2009, nr. 15, p. 224-231.
151. Deshpande LM, et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, nr. 58, p. 163-70.
152. Werner G, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*, 2008, nr. 13(47), pii: 19046.
153. Tacconelli E, Cataldo MA. Vancomycin-resistant enterococci (VRE): transmission and control. *Int J Antimicrob Agents*, 2008, nr. 31, p. 99-106.
154. Mascini EM, Bonten MJM. Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. *Clin Microbiol Infect*, 2005, nr. 11(Suppl. 4), p. 43-56.
155. Song X, et al. Effect of nosocomial vancomycin-resistant enterococcal bacteremia on mortality, length of stay and costs. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2003, nr. 24(4), p. 251-256.
156. Hautemaniere A, et al. A prospective study of the impact of colonization following hospital admission by glycopeptide-resistant enterococci on mortality during a hospital outbreak. *Am J Infect Control*, 2009, nr. 37(9), p. 746-752.
157. Sakka V, et al. Risk factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(1), p. 14-21.
158. Cantón R, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 2012, nr. 18, p. 413-431.

159. Vatopoulos A. High rates of metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece – a review of the current evidence. *Euro Surveill*, 2008, nr. 13(4), doi:pii: 8023.
160. Souli M, et al. An outbreak of infection due to β -lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis*, 2010, nr. 50, p. 364–373.
161. Bratu S, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*, 2005, nr. 165, p.1430–1435.
162. Marchaim D, et al. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, nr. 52, p. 1413-1418.
163. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 2007, nr. 20, p. 440–458.
164. Falcone M, et al. Infections with VIM-1 metallo β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* and their correlation with clinical outcome. *J Clin Microbiol*, 2009, nr.47, p. 3514–3519.
165. Nordmann P, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect*, 2012, nr. 18, p. 432-438.
166. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, nr. 39, p. 211-1233.
167. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(Suppl1), p. 42-52.
168. Cantón R, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(Suppl1), p. 144-153.
169. Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(Suppl1), p. 117-123.
170. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(Suppl1), p. 11-32.
171. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect*, 2008, nr. 14(Suppl1), p. 3-10.
172. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 2009nr. 22, p. 161-82.
173. Empel J, et al. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. *Microb Drug Resist*, 2010, nr. 16, p. 291-295.
174. D’Andrea MM, et al. Evolution of a multi-drug-resistant *Proteus mirabilis* clone with chromosomal AmpC-type cephalosporinases spreading in Europe. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, nr. 55, p. 2735-2742.
175. European Centre for Disease Prevention and Control. Risk assessment on the spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) through patient transfer between health-care facilities, with special emphasis on cross-border transfer. Stockholm: ECDC; 2011.
176. Aly N.Y., et al. Nosocomial infections in a medical-surgical intensive care unit. *Med Princ Pract*, 2008, nr. 17(5), p. 373-377.
177. Hortal J., et al. European Study Group on Nosocomial Infections; European Workgroup of Cardiothoracic Intensivists. Ventilator-associated pneumonia in patients undergoing major heart surgery: an incidence study in Europe. *Crit Care*, 2009, nr. 13(3):R80.

178. Glew R.H., et al. Infections with *Acinetobacter calcoaceticus* (*Herellea vaginicola*): clinical and laboratory studies. *Medicine (Baltimore)*, 1977, nr. 56(2), p. 79-97.
179. Crues J.V., et al. In vitro activity of three tetracycline antibiotics against *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, nr. 16(5), p. 690-692.
180. Hanberger H., et al. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA*, 1999, nr. 281, p. 67-71.
181. Vila J., et al. In vitro antimicrobial production of β -lactamases, aminoglycoside-modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993, nr. 37, p. 138-141.
182. Shi Z.Y., et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1996, nr. 24, p. 81-85.
183. Giamarellou H., Antoniadou A., Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *Int J Antimicrob Agents*, 2008, nr. 32(2), p. 106-19.
184. Montefour K., et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging multidrug-resistant pathogen in critical care. *Crit Care Nurse*, 2008, nr. 28(1), p.15-25.
185. Lizaso D., et al. Nosocomial bloodstream infections caused by gram-negative bacilli: epidemiology and risk factors for mortality. *Rev Chilena Infectol*, 2008, nr.25(5), p. 368-373.
186. Pournaras S., Iosifidis E., Roilides E. Advances in antibacterial therapy against emerging bacterial pathogens. *Semin Hematol*, 2009, nr. 46(3), p. 198-211.
187. Prisacari V., Berdeu I. Antibiotice rezistența / 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.
188. Park Y.K., et al. Two distinct clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Korean hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2009, nr. 64(4), p. 389-395.
189. McCracken M., et al. Identification of multidrug- and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Canada: results from CANWARD 2007. *J Antimicrob Chemother*, 2009; nr. 64(3), p. 552-555.
190. Jamal W., et al. Role of tigecycline in the control of a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect*, 2009, nr. 72(3), p. 234-242.
191. Brusselaers N, et al. Morbidity and mortality of bloodstream infections in patients with severe burn injury. *Am J Crit Care*, 2010, nr. 19, p. e81-87
192. Clark NM, Patterson J, Lynch JP. Antimicrobial resistance among gramnegative organisms in the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care*, 2003, nr. 9, p. 413-423.
193. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992-June 2001, issued August 2001. *Am J Infect Control*, 2001, nr. 29, p. 404-421.
194. Jones R.N. Global epidemiology of antimicrobial resistance among community-acquired and nosocomial pathogens: a five-year summary from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *Sem Respir Crit Care Med*, 2003, nr. 24, p. 121-134.
195. Brusselaers N, Blot S, Vogelaers D. Non-blood *Candida* infections in the ICU. *Neth J Crit Care*, 2011.
196. Miceli MH, Diaz JA, Lee SA: Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis* 2011, nr. 11, p. 142-151.

197. Chow JK, et al. Factors associated with candidemia caused by non-albicans *Candida* species versus *Candida albicans* in the intensive care unit. *Clin Infect Dis*, 2008, nr. 46, p. 1206-1213.
198. Leroy O, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). *Crit Care Med*, 2009, nr. 37, p. 1612-1618.
199. Felmingham D., et al.. The Alexander Project: the benefits from a decade of surveillance. *J. Antimicrob. Chemother*, 2005, nr. 56, p. ii3-ii21.
200. Tattersall, M. H., et al.. Empirical antibiotic therapy in febrile patients with neutropenia and malignant disease. *Eur. J. Cancer*, 1973, nr. 9, p. 417-423.
201. Behta M., B. Ross, R. Chaudhry. A comprehensive decision support system for the identification, monitoring and management of patients with multi-drug resistant organisms (MDRO). *AMIA Annu. Symp. Proc*, 2008, p.1218.
202. Sahm D. F., M. K. Marsilio, G. Piazza. Antimicrobial resistance in key bloodstream bacterial isolates: electronic surveillance with the Surveillance Network Database—USA. *Clin. Infect. Dis*, 1999, nr. 29, p. 259-263.
203. O'Brien T. F., et al.. International comparison of prevalence of resistance to antibiotics. *JAMA*, 1978, nr. 239, p. 1518-1523;
204. MacKenzie F. M., et al. The role of microbiology and pharmacy departments in the stewardship of antibiotic prescribing in European hospitals. *J. Hosp. Infect*, 2007, nr. 65(Suppl. 2), p. 73-81.
205. Pfaller M. A., R. N. Jones. Global view of antimicrobial resistance. Findings of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997- 1999. *Postgrad. Med*, 2001, nr. 109, p. 10-21.
206. Turner P.J. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*, 2008, nr. 60, p. 185-192.
207. Thornsberry C., et al. Antimicrobial activity among multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated in the United States, 2001-2005. *Postgrad. Med*, 2008, nr. 120, p. 32-38.
208. Bochicchio G.V., et al. In vitro susceptibilities of *Escherichia coli* isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide in 2002-2004: results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *Surg. Infect. (Larchmt.)*, 2006, nr.7, p. 537-545.
209. Sader H.S., et al. Interpretive categorical accuracy of fluoroquinolone reference broth microdilution MIC results when testing *Streptococcus pneumoniae*: selection of a surrogate testing agent. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*, 2008, nr. 62, p. 460-463.
210. Christoff J., et al. Optimizing empirical antimicrobial therapy for infection due to Gram-negative pathogens in the intensive care unit: utility of a combination antibiogram. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, 2010, nr. 31, p. 256-261.
211. Paterson D.L., L.B. Rice. 2003. Empirical antibiotic choice for the seriously ill patient: are minimization of selection of resistant organisms and maximization of individual outcome mutually exclusive? *Clin. Infect. Dis*. 36:1006-1012.
212. Jernigan D.B., et al. Sentinel surveillance as an alternative approach for monitoring antibiotic-resistant invasive pneumococcal disease in Washington State. *Am. J. Public Health*, 2001, nr. 91, p. 142-145.

213. Mochizuki T., et al. Analysis of antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* strains by WHONET 5: microbiology laboratory database software. *J. Nippon Med. Sch.*, 2004, nr. 71, p. 345–351.
214. French G.L. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2009, nr. 15(Suppl. 7), p. 10–16.
215. Kennedy A.D., et al. Epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: recent clonal expansion and diversification. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2008, nr. 105, p. 1327–1332.
216. Rodriguez-Noriega E., et al. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. *Int. J. Infect. Dis.*, 2010, nr. 14, p. e560–e56.
217. Herr, C. E., et al. Additional costs for preventing the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and a strategy for reducing these costs on a surgical ward. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 2003, nr. 24, p. 673–678.
218. T. F. O'Brien, J. Stelling. Integrated Multilevel Surveillance of the World's Infecting Microbes and Their Resistance to Antimicrobial Agents *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2011, p. 291-295.
219. Jorgensen J.H., et al. Multilaboratory evaluation of disk diffusion antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria meningitidis* isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, nr. 44, p. 1744–1754.
220. Tenover F.C., et al. Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance: proficiency testing and quality control results from the World Health Organization's external quality assurance system for antimicrobial susceptibility testing. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, nr. 39, p. 241–250.
221. Woods C. W., et al. Emergence of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A as a major cause of enteric fever in Kathmandu, Nepal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2006, nr. 100, p. 1063–1067.
222. Hawser S., et al. Surveillance programmes and antibiotic resistance: Worldwide and regional monitoring of antibiotic resistance trends. *Antibiotic Resist.*, 2012, nr. 211, p. 31–43.
223. EU Ministers of Health. 2188th Council Meeting. Antibiotic resistance—A strategy against the microbial threat—Council Resolution. Luxembourg (08-06-1999)—no. 8876/99 (Presse 185). Brussels, 1999.
224. Standing Medical Advisory Committee. Sub-Group on Antimicrobial Resistance. The path of least resistance. London: Department of Health, 2000.
225. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance G. Cornaglia, et al., 2004, p. 351.
226. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action, p.12.
227. Vazquez J. A., S. Berron. Multilocus sequence typing: the molecular marker of the Internet era. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 2004, nr. 22, p. 113–120.
228. Chen, T. S., et al. Security architecture for HL/7 message interchange. *Stud. Health Technol. Inform.*, 2001, nr. 84, p. 1247–1251.
229. Official Journal of the European Communities. OJ L 28, 3.2.2000, p. 50-53.
230. Official Journal of the European Communities. OJ L 142, 30.4.2004, p. 1.
231. Official Journal of the European Communities. OJ C 211, 18.7.2012, p. 2-5.
232. Surveillance standards for antimicrobial resistance. Geneva, World Health Organization, 2002, WHO CDS/CDR/DRS/ 2001.5.
233. World Health Day 2011: Policy briefs. Geneva, World Health Organization, 2011.

234. Country pharmaceutical situations: Fact Book on WHO Level 1 indicators 2007. Geneva, World Health Organization, 2009, WHO/EMP/MPC/2010.1.
235. Grundmann H et al. A framework for global surveillance of antibiotic resistance. *Drug Resistance Updates*, 2011, nr. 14(2), p. 79-87.
236. Stelling J et al. Automated use of WHONET and SaTScan to detect outbreaks of *Shigella* spp. Using antimicrobial resistance phenotypes. *Epidemiology and Infection*, 2010, nr. 138(6), p. 873-83.
237. Huang SS., et al. Automated detection of infectious disease outbreaks in hospitals: a retrospective cohort study. *PLoS Medicine*, 2010, nr. 7(2), p. e1000238.
238. Owens R.C. Jr. Antimicrobial stewardship: Concepts and strategies in the 21st century. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*, 2008, nr. 61, p. 110–128.
239. Dellit T.H.; et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin. Infect. Dis*, 2007, nr. 44, p. 159–177.
240. Drew R.H. Antimicrobial stewardship programs: How to start and steer a successful program. *J. Manag. Care Pharm.* 2009, nr. 15, p. S18–S23.
241. Moehring R.W.; Anderson, D.J. Antimicrobial stewardship as part of the infection prevention effort. *Curr. Infect. Dis. Rep*, 2012, nr. 14, p. 592–600.
242. Paterson D.L. The role of antimicrobial management programs in optimizing antibiotic prescribing within hospitals. *Clin. Infect. Dis*, 2006, nr. 42, p. S90–S95.
243. Beardsley J.R., et al.. Show me the money: Long-term financial impact of an antimicrobial stewardship program. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, 2012, nr. 33, p. 398–400.
244. Carling P., et al. Favorable impact of a multidisciplinary antibiotic management program conducted during 7 years. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, 2003, nr. 24, p. 699–706.
245. Standiford H.C., et al. Antimicrobial stewardship at a large tertiary care academic medical center: Cost analysis before, during, and after a 7-year program. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, 2012, nr. 33, p. 338–345.
246. Nicasio A.M., et al.. Length of stay and hospital costs associated with a pharmacodynamic-based clinical pathway for empiric antibiotic choice for ventilator-associated pneumonia. *Pharmacotherapy*, 2010, nr. 30, p. 453–462.
247. Nicasio A.M.; et al. Pharmacodynamic-based clinical pathway for empiric antibiotic choice in patients with ventilator-associated pneumonia. *J. Crit. Care*, 2010, nr. 25, p. 69–77.
248. Stamey T.A.; Bragonje J. Resistance to nalidixic acid. A misconception due to underdosage. *JAMA*, 1976, nr. 236, p. 1857–1860.
249. Gullberg E., et al.. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathog*, 2011, nr.7, e1002158, doi:10.1371/journal.ppat.1002158.
250. Caron W.P.; Mousa S.A. Prevention strategies for antimicrobial resistance: A systematic review of the literature. *Infect. Drug Resist*, 2010, nr. 3, p. 25–33.
251. Canton R.; Morosini M.I. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev*, 2011, nr.35, p. 977–991.
252. Pulido M.R., et al. Progress on the development of rapid methods for antimicrobial susceptibility testing. *J. Antimicrob. Chemother*, 2013, in press.
253. Bal A.M.; Kumar A.; Gould I.M. Antibiotic heterogeneity: From concept to practice. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2010, nr. 1213, p. 81–91.
254. Masterton R.G. Antibiotic heterogeneity. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2010, nr. 36, p. S15–S18.

255. Piper G.L.; Kaplan L.J. Antibiotic heterogeneity optimizes antimicrobial prescription and enables resistant pathogen control in the intensive care unit. *Surg. Infect*, 2012, nr. 13, p. 194–202.
256. Cumpston A., et al. Extended follow-up of an antibiotic cycling program for the management of febrile neutropenia in a hematologic malignancy and hematopoietic cell transplantation unit. *Transpl. Infect. Dis.*, 2013, nr. 15, p. 142–149.
257. Bergstrom C.T.; Lo M.; Lipsitch M. Ecological theory suggests that antimicrobial cycling will not reduce antimicrobial resistance in hospitals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, nr. 101, p. 13285–13290.
258. Beardmore R.E.; Pena-Miller R. Rotating antibiotics selects optimally against antibiotic resistance, in theory. *Math. Biosci. Eng*, 2010, nr. 7, p. 527–552.
259. Goulart, C.P.; et al. Designing antibiotic cycling strategies by determining and understanding local adaptive landscapes. *PLoS One*, 2013, nr.8, e56040, doi:10.1371/journal.pone.0056040.
260. Hashino, S., et al. Clinical impact of cycling the administration of antibiotics for febrile neutropenia in Japanese patients with hematological malignancy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 2012, nr.31, p. 173–178.
261. Sarraf-Yazdi, et al. A 9-Year retrospective review of antibiotic cycling in a surgical intensive care unit. *J. Surg. Res*, 2012, nr. 176, p. e73–e78.
262. Takesue, et al. Impact of a hospital-wide programme of heterogeneous antibiotic use on the development of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. *J. Hosp. Infect*, 2010, nr. 75, p. 28–32.
263. Sandiumenge, A., et al. Effect of antibiotic diversity on ventilator-associated pneumonia caused by ESKAPE Organisms. *Chest*, 2011, nr. 140, p. 643–651.
264. Canton R.; Bryan J. Global antimicrobial resistance: From surveillance to stewardship. Part 2: Stewardship initiatives. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2012, nr. 10, p. 1375–1377.



APROBAT:

Prorector pentru activitatea științifică

USMF „Nicolae Testemițanu”

Dr. hab. med., profesor universitar

Gh. Rojnovanu

Data „14 decembrie” 2014



ACTUL Nr. 23
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico – didactic)

1. Denumirea ofertei pentru implementare

Metoda de transfer și conversie a datelor privind antibioticorezistența microorganismelor testate cu sistemul automatizat VITEK 2 Compact, în programul WHONET.

2. Autorii/coautorii: De către Berdeu Ion, laboratorul „Infecții intraspitalicești”, USMF „N. Testemițanu”

3. Sursa de informație: Prezenta metodă este elaborată în cadrul laboratorului „Infecții intraspitalicești”, catedra Epidemiologie, USMF „Nicolae Testemițanu” și se bazează pe un lot de 1092 tulpini identificate și testate cu sistemul automatizat microbiologic VITEK 2 Compact.

4. Unde și când a fost implementată: În cadrul activității laboratorului „Infecții intraspitalicești și catedrei Epidemiologie, USMF „Nicolae Testemițanu”, din ianuarie 2014.

5. Eficacitatea implementării: Semnificația științifică a implementării metodei propuse în procesul științifico-didactic constă în eficacitatea ei de a transfera rapid și a face conversia datelor privind sensibilitatea/rezistența la antibiotice a microorganismelor testate cu sistemul VITEK 2 Compact.

6. Obiecții/ propuneri: Valoarea aplicativă a metodei o constituie transferul rapid și conversia corectă a datelor în formatul WHONET, ceea ce face posibil analiza corectă și rapidă a datelor privind antibioticorezistența microorganismelor testate cu sistemul VITEK 2 Compact, dar și analiza comparativă cu alte date obținute cu alte metode de studiu a antibioticorezistenței.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în Cererea de inovație, certificată cu nr. 5405

Șef catedra Epidemiologie
USMF „N. Testemițanu”
dr. habilitat, prof. universitar
mem. coresp. al AȘM din RM

Semnătura

Numele, prenumele

Viorel Prisacari

Laborator „Infecții Intraspitalicești”
USMF „N. Testemițanu”
dr. med., cercetător științific coordonator
conferențiar cercetător

Buraciova Svetlana

Șef. Secției Inovare, marketing
și transfer tehnologic :

Eugenia Groza



REPUBLICA MOLDOVA
MINISTERUL SĂNĂTĂȚII
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ
INSTITUTUL DE MEDICINĂ URGENTĂ
2004, mun. Chișinău, str. T.Ciorba, 1 Tel 23-78-84

05 decembrie 2014 Nr.01-5/2271

ACT DE IMPLEMENTARE

1. Denumirea metodei de implementare:

Programul computerizat WHONET de monitorizare a antibioticorezistenței microbiene la nivel de instituție medicală.

2. De către cine este propusă: Berdeu Ion, doctorand.

3. Unde și când s-a implementat: IMSP Institutul de Medicină Urgentă, anul 2013.

4. Rezultatele și eficacitatea implementării metodei:

Implementarea programului computerizat WHONET a permis de a crea baza de date cu privire la microorganismele izolate de la pacienții cu infecții septico-purulente și nivelul lor de rezistență/ sensibilitate la antibiotice, cu analiza ulterioară, în funcție de specia microorganismelor, profilul secției, cât și la nivel de instituție medicală. Rezultatele obținute permit utilizarea selectivă a antibioticelor în tratamentul și profilaxia infecțiilor septico-purulente, administrarea rațională a antibioticelor, diminuarea antibioticorezistenței microbiene.

5. Obiecții, propuneri:

Implementarea programului WHONET a permis de a exclude greșelile manuale care pot apărea la analiza manuală a rezistenței/sensibilității microorganismelor. De asemenea informația poate fi folosită în scopul elaborării setului de antibiotice ce urmează a fi utilizat de către instituție în tratamentul empiric, prin rotația antibioticelor. La programul WHONET este posibilă importarea, conversia și analiza rezultatelor obținute prin analizatorul automatizat VITEK 2 Compact.

Director general
Dr. habilitat în medicină,
Profesor universitar



Gheorghe CIOBANU

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA PUBLICĂ
UNIVERSITATEA
DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
«NICOLAE TESTEMIȚANU»
DIN REPUBLICA MOLDOVA



MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

PUBLIC INSTITUTION
NICOLAE TESTEMIȚANU
STATE UNIVERSITY
OF MEDICINE AND PHARMACY
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MD 2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; tel. (+37322) 20-57-01; fax: (+37322) 24-23-44; rector@usmf.md; www.usmf.md

08-03-15 nr. 03-589

la nr. _____ din _____

APROB

Prorector pentru asigurarea calității și integrității
în învățământ a USMF „Nicolae Testemițanu”,
Olga Cernețchi,
Doctor habilitat, profesor universitar

ACT DE IMPLEMENTARE

Prin prezentul, se confirmă faptul implementării materialelor elaborate de
doctorandul Berdeu Ion „Optimizarea monitoringului antibioticorezistenței
microbiene în infecțiile septico-purulente la nivel de instituție medicală” în procesul
didactic la catedra Epidemiologie, pentru instruirea rezidenților-epidemiologi și
studenților anilor IV, V, VI - facultățile Medicină și Stomatologie, în cadrul cursului
„Epidemiologia și prevenirea infecțiilor nosocomiale”

Șef catedră Epidemiologie,
Dr. habilitat, prof. universitar,
mem. corespondent al AȘM

V. Prisacari



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

DIPLOMĂ

Se decernează

*Domnului Ion Berdeu,
doctorand, Catedra de epidemiologie,
pentru performanțe în cadrul Conferinței științifice anuale a colaboratorilor și studenților
USMF "Nicolae Testemițanu", ediția 2014*

Rector

Ion Ababii,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.,
academician al AȘM



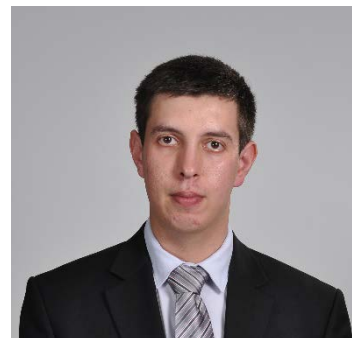
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctor sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Berdeu Ion

Data_____2015

CV-ul AL AUTORULUI



Nume/Prenume Berdeu Ion

Data și locul nașterii 24 ianuarie 1986, Republica Moldova, or. Strășeni

Cetățenia Republica Moldova

Studii

2010-2011 Studii postuniversitare prin rezidențiat la specialitatea Epidemiologie, USMF „N. Testemițanu”.

2004-2010 Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”, Facultatea Sănătate Publică, or. Chișinău

2001-2004 Liceul Teoretic „Ion Vătaamanu”, or. Strășeni

Stagii „HIV-Infecția: clinica, diagnosticul, tratamentul și profilactica”, 14-17 martie 2011, Chișinău, Republica Moldova;

„Epidemiologia și prevenția infecțiilor nosocomiale”, 28 mai-1 iunie, 2012, Chișinău, Republica Moldova;

„Supravegherea fenomenului de rezistență la antibiotice și testării/interpretării rezultatelor sensibilității antimicrobiene”, 28-30 octombrie, 2014, Chișinău, Republica Moldova;

REACH-4-MOLDOVA Modular Course in Infectious Diseases and Evidence-based Medicine, 14 noiembrie 2014, Chișinău, Republica Moldova;

CHRONIC Diseases Management, 25-28 noiembrie 2014, Chișinău, Republica Moldova;

Domeniile de activitatea științifică Epidemiologia infecțiilor nosocomiale

Activitatea profesională

2011 - 2014	Doctorand Catedra de Epidemiologie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Laboratorul științific „Infecții intraspitalicești”
2011 - prezent	Cercetător științific stagiar în Laboratorul științific „Infecții intraspitalicești”
2014 - prezent	Asistent universitar catedra de Epidemiologie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”

Participări la foruri științifice internaționale

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

Lucrări științifice publicate

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.

Participări în proiecte științifice naționale și internaționale

2011-2014 – Proiectul național 11.817.09.03F „Optimizarea principiilor de monitoring și control a antibioticorezistenței microbiene în infecțiile septico-purulent nosocomiale, elabo-rarea antisepticilor noi”

Premii și mențiuni

Bursa Nominală „Nicolae Anestiadi” pentru anul 2014

Diplomă pentru performanțe în cadrul Conferinței științifice anuale a colaboratorilor și studenților, ediția 2014.

Date de contact

Adresa	Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD 2004, Catedra de Epidemiologie
Telefon	(+373 022) 205-101, 068276948
E-mail	ionberdeu@gmail.com