

# Evidențierea unor markeri care facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți antimicrobieni

efectuat în cadrul proiectului *Abordarea bioeconomică a  
agenților antimicrobieni – utilizare și rezistență*

(cod - PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0361).

Colectiv de redacție:

Coordonator: Prof. dr. Gabriela Tanasie

Membri: Conf. Dr. Carmen Tatu, doctorand Alina Simina, Conf. Călin Mircu,

Data finalizării: 15.11.2019

## **Acknowledgements**

Activities under this work were carried out in the *Research Laboratory Complex "Horia Cernescu"* - financed by project *"A bio-economical approach of the antimicrobial agents - use and resistance"*, in the frame of contract PCCDI 7/19.03.2018, code: PN-III P1-1.2-FPRD-2017.

## 1. Introducere

Rezistența la antibiotice reprezintă capacitatea unui microorganism de a supraviețui în prezența antibioticelor sau chimioterapicelor antibacteriene. Ea poate fi naturală sau dobândită. Rezistența microbiană la antibiotice constituie o problemă complexă la nivel mondial care necesită intervenții în timp util având în vedere impactul enorm asupra sănătății umane. OMS a elaborat în anul 2014 un raport privind rezistența la antibiotice, denumit “Rezistența antimicrobiană: raport mondial de supraveghere”, prin coroborarea datelor din 114 țări, din toate regiunile. Acest raport se constituie într-un semnal de alarmă cu privire la rezistența bacteriană, deoarece amenințările generate de aceasta nu mai sunt predicții de viitor, ci realitate ce poate afecta pe oricine, indiferent de vârstă, în orice țară.

Disproporția dintre dezvoltarea lentă a noilor medicamente și apariția rapidă a tulpinilor rezistente necesită dezvoltarea și cercetarea de noi agenți antimicrobieni sau identificarea de agenți modulatori de rezistență (Chovanova et. al., 2016).

**Motivele privind incidența tot mai ridicată** din ultimii ani, pe plan mondial, a infecțiilor bacteriene soldate cu eșec terapeutic ar putea fi: utilizarea abuzivă și nejustificată a antibioticelor în practica medicală și diseminarea factorilor de antibio rezistență, câștigarea unui număr tot mai mare de factori de virulență de către tulpinile bacteriene, selectarea mutantelor rezistente, utilizarea metodelor de investigație invazive, creșterea numărului de pacienți imunocompromiși, răspândirea rapidă a microorganismelor în mediul ambiant prin facilitarea globalizării și a mijloacelor moderne de transport, folosirea antibioticelor în alte scopuri decât infecțiile umane (infecții la animale, în alimente pentru conservare, ca adjuvante în hrana animalelor, în compoziția diferitelor produse de gospodărie - săpunuri, loțiuni). S-a estimat că anual consumul total de antibiotice la nivel mondial se situează între 100.000 și 200.000 de tone (Wise, 2002).

**Consecințe economice.** Rezistența la antibiotice determină prelungirea timpului de spitalizare, crește riscul de deces dar și costurile îngrijirii sănătății. Se estimează că persoanele infectate cu tulpini MRSA au cu 64% mai mult risc de deces decât persoanele infectate cu tulpini sensibile.

**Strategii de reducere a rezistenței la antibiotice.** Instrumentele cheie pentru reducerea emergenței rezistenței la antibiotice sunt reprezentate de sistemele de supraveghere și monitorizare, îmbunătățirea igienei personale și colective, accesul la apă curată, prevenirea, controlul infecțiilor în unitățile medicale și vaccinare, pentru reducerea consumului de antibioterapie. În plus, trebuie dezvoltate posibilități noi de diagnostic, preparate antibacteriene noi și alte instrumente care să permită medicinei moderne să țină pasul cu diseminarea rezistenței bacteriene. Unele organizații naționale și internaționale au dezvoltat strategii care indică prudență în utilizarea antibioticelor la om și animal, cât și importanța măsurilor de igienă în îngrijirea sănătății. Câteva exemple în acest sens sunt sugestive:

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

- "*Strategie de combatere a rezistenței microbiene*" reprezintă propunerea Comisiei Europene din 2011 care sugerează un sistem comunitar constând din patru componente cheie: supraveghere, prevenire, cercetare și dezvoltarea de produse antibiotice și vaccinuri, cât și cooperare internațională.
- "*European Centre for Disease Prevention and Control*" întemeiat în 2005 care reprezintă un alt pas important către o abordare unitară împotriva rezistenței microbiene.
- „*Annual reports of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARNet)*” efectuate în 2009 și în 2010, conțin capitole referitoare la rezistența *Escherichia coli* la agenții antimicrobieni.

Din păcate, România este una dintre țările europene cu cel mai mare consum de antibiotice, așa cum arată un studiu privind utilizarea antibioticelor în statele Uniunii Europene, elaborat la sfârșitul anului 2014 de către specialiștii comisiilor internaționale, în comparație cu țările nordice (Norvegia, Suedia, Finlanda). În plus, România alături de Grecia, Italia, Spania prezintă o antibioretistență mai mare de 50% la tulpini. Dacă până în anul 2012 se aprecia că rezistența la antibiotice în țara noastră era moderată, după 2013, aceasta a ajuns să fie considerată înaltă. Situația este cu atât mai îngrijorătoare cu cât se știe că un număr mare de infecții intraspitalicești rămân încă neraportate.

## 2. Rezistența la agenți a *Escherichia Coli*

*Escherichia coli* este agentul patogen cel mai frecvent izolat în infecțiile tractului urinar. Unul dintre cele mai mari studii privind rezistența antimicrobiană la nivel mondial este SMART (Studiul de monitorizare a tendinței de rezistență la antimicrobiene). Acesta a fost inițiat de compania MSD în 2002 pentru a monitoriza susceptibilitatea *in vitro* a probelor biologice recoltate de la pacienți, la 12 antibiotice utilizate frecvent în diferite regiuni ale lumii. Acest program este încă în curs de desfășurare.

Rezistența *Escherichia coli* la agenții antimicrobieni a fost raportată în întreaga lume dar cu variații geografice substanțiale și diferențe semnificative în diferite populații și medii. *Escherichia coli* este o specie bacteriană cu o incredibilă diversitate în capacitatea de a coloniza și persista în numeroase nișe, atât în mediu, cât și în organismul gazdă (Wiles et al. 2008). Este un bacil Gram negativ, convex, circular, mobil, nesporulat, necapsulat (rar poate avea o pseudocapsulă), cu suprafața netedă și margini distincte, facultativ anaerob. *Escherichia coli* cuprinde o populație enormă de bacterii, care prezintă un grad foarte ridicat de diversitate genetică și fenotipică.

Într-un studiu efectuat în anul 2012 în România se constată o tendință de creștere a rezistenței tulpinilor de *Escherichia coli* la cefalosporinele de generația a III-a (25,79%), fluoroquinolone (29,03%) și aminoglicozide (25,41%) comparativ cu perioada 2009-2012. Nu s-au izolat tulpini carbapenem-rezistente iar multirezistența (la cefalosporine de generația a 3-a + fluoroquinolone + aminoglicozide) s-a ridicat la 15,73%.

## 2.1. Markeri de rezistență

Studiile care au avut în vedere identificarea markerilor de rezistență în cazul *Escherichia coli* dar și a altor specii de bacterii au incriminat pe de-o parte existența **mutațiilor** care a fost demonstrată de o serie de studii, iar pe de altă parte prezența **integronilor**.

### Mutațiile

Rezistența la antibiotice poate fi naturală sau dobândită. Rezistența bacteriană dobândită se poate manifesta genetic (genotipic) sau fenotipic.

- **Rezistența genetică (cromozomială)** apare ca urmare a unor **mutații** în secvența nucleotidelor cromozomului bacterian, care determină sinteza de proteine sau alte macromolecule, diferite de structurile chimice inițiale, astfel încât acțiunea antibioticului nu se mai poate realiza ([Ionete, 2012](#)). Genele de rezistență sunt transferate orizontal prin diverse mecanisme: scăderea permeabilității bacteriei la antibiotic, inactivare enzimatică, alterarea căii metabolice, modificarea țintei. Dacă bacteria transportă mai multe gene de rezistență se numește - multidrug resistant (MDR).
- **Rezistența bacteriană fenotipică** se referă la faptul că atunci când bacteria nu crește, ea poate să nu mai fie influențată de antibiotic (bacteriile în faza de repaus) ([Ionete 2012, Strahilevitz et. al. 2009](#)).

**Integronii** reprezintă mecanisme genetice care permit bacteriilor să se adapteze și să evolueze rapid prin stocarea și exprimarea unor noi gene. Aceste gene sunt încorporate într-o structură genetică specifică numită casetă a genelor sau caseta integronă. Integronii au fost considerați factorii cruciali pentru dezvoltarea multirezistenței la antibiotice ([Roe et. al., 2003](#)). Pentru *Escherichia coli* s-au identificat 60 de gene diferite de rezistență la antibiotice care au fost grupate în trei clase distincte de integroni dintre care clasa 1 este cea mai răspândită ([Fluit AC, Schmitz FJ, 2004](#)).

### 2.1.1. Markeri de rezistență ai *Escherichia coli* la **beta-lactamine**

Studii de specialitate ([Pitout et.al., 2009](#)) privind mecanismele implicate în rezistența *Escherichia coli* la beta-lactamine au scos în evidență câteva posibile cauze:

- alterarea accesului antibioticului la locul de acțiune prin modificarea porinelor din membrana externă,
- modificarea prin remodelare a proteinelor de legare a penicinelor care interferează cu acțiunea lor în ceea ce privește sinteza peretelui bacterian,
- ruperea inelului beta-lactamic și producerea de diferite beta-lactamaze care inactivează astfel antibioticul (se pare că acesta reprezintă cel mai important mecanism pentru bacilii Gram negativi),

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

- recunoașterea acestor antibiotice de către proteinele de transport bacterian și pomparea efectivă a acestora din celulă, realizând astfel efluxul activ al beta-lactaminelor.

S-a constatat că *Escherichia coli* dar și *Klebsiella pneumoniae* produc beta-lactamaze cu spectru extins (ESBL). Din punct de vedere genetic au fost descrise trei grupe majore de beta-lactamaze cu spectru extins: TEM, SHV și CTX - M. Genele beta-lactamazelor cu spectru extins au ajuns să fie foarte rapid răspândite. Încercarea de a explica acest fapt, a fost asociată cu diverse elemente mobile genetice, cum ar fi transpozoni, secvențe de inserție și integroni. Cu toate că la începutul anilor 90, beta-lactamazele cu spectru extins din categoriile TEM și SHV au fost raportate cel mai frecvent și doar ocazional infecții nosocomiale produse de Enterobacteriaceae cu CTX-M-2 (Ionete, 2012), această situație s-a modificat în timpul anilor 2000, cea mai frecventă cauză de apariție a infecțiilor de tract urinar în întreaga lume a fost cauzată de *Escherichia coli* producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins din categoria CTX-M-15 (Canton R, Croque TM, 2006). Prezența ESBL conferă rezistență tipică la peniciline cu spectru larg, cefalosporine și aztreonam. Organismele cu ESBL sunt adesea concomitent rezistente la antibiotice din alte clase, ca aminoglicozide și fluorochinolone.

### 2.1.2. Markeri de rezistență ai *Escherichia coli* la aminoglicozide

S-au descoperit trei mecanisme diferite care explică fiecare în parte rezistența la aminoglicozide:

- a) mecanismul de sinteză enzimatică. Există peste 85 de enzime care pot modifica structura aminoglicozidelor și ca urmare a acestui fapt, acestea nu vor mai fi recunoscute de locurile țintă. Acest mecanism predomină în cele mai multe din cazurile de bacterii rezistente dar există totuși și alte mecanisme cum ar fi: modificarea enzimelor care neutralizează antibioticul prin următoarele reacții:
  - acetilare cu ajutorul aminoglicozid-acetiltransferaze,
  - fosforilare prin aminoglicozid-fosfotransferaze,
  - adenilare prin aminoglicozid-adenililtransferaze.

Aceste enzime sunt de obicei codificate plasmidic, dar poate fi implicată și diseminarea facilitată de transpozoni. Din cele peste 85 de enzime care modifică structura aminoglicozidelor, doar o mică parte par a cauza majoritatea rezistenței la aminoglicozide a *Escherichia coli*. Ele sunt: AAC(3)-I, AAC(3)-II, AAC(3)-III, AAC(3)-IV, AAC(6')-I și ANT(2), (Ho et.al., 2010).

- b) modificarea ARN-r și țintelor proteice ribosomale,
- c) modificarea transportului prin peretele bacterian.

Rezistența tulpinilor de *Escherichia coli* la aminoglicozide variază în funcție de tipul de antibiotic, de microorganism, mecanism de rezistență, zona geografică și mulți alți factori.

### 2.1.3. Markeri de rezistență ai *Escherichia coli* la fluorochinolone

Chinolonele reprezintă un grup numeros și în continuă creștere de compuși sintetici bazați pe nucleul 4-chinolonici. Termenul “chinolone” se referă la compuși chimioterapici antibacterieni sintetici, fiind numele primei generații descoperită în 1934 pentru tratamentul malariei în al doilea război mondial.

Toate chinolonele acționează prin inhibarea activității enzimatică a ADN-girazei. Această enzimă are rol de superrăsucire negativă a ADN-ului dublu catenar, deci inhibă replicarea. Cercetările privind mecanismul de acțiune al acestor antibiotice au dus la identificarea unei a doua enzime cu mecanism asemănător, care previne superspiralarea în cursul replicării.

Rezistența tulpinilor de *Escherichia coli* la fluorochinolonele, este foarte răspândită. În anii 1980, când aceste antibiotice au fost introduse pentru prima dată, rezistența era practic zero. Astăzi acest tratament este inefficient la peste jumătate dintre pacienți în multe țări din zone diferite ale lumii pentru că între timp bacteriile au dezvoltat rezistență.

Au fost descrise patru mecanisme care pot explica rezistența la fluorochinolone:

- mutații cromozomiale la nivelul genelor care codifică cele două enzime țintă (modificarea țintei),
- scăderea pătrunderii intracelulare a antibioticului,
- eflux activ al antibioticului din microorganism,
- acțiunea unor enzime specifice care inactivează unele fluorochinolone.

În ceea ce privește mutațiile cromozomiale, se pare că acestea au loc în genele care codează subunitățile ADN girazei (*gyrA* și *gyrB*) și ale topoizomerazei IV (*parC* și *parE*). S-a încercat elucidarea mecanismelor intime care să explice rezistența la fluorochinolone a *Escherichia coli*. Se pare că este vorba de:

- modificarea permeabilității membranei externe cu creșterea activității pompelor de eflux din membrana citoplasmatică,
- mutații care se produc în cadrul proteinelor membranei externe (porine),
- mutații care se produc în cadrul proteinelor membranei interne (pompele de eflux).

Toate aceste modificări au ca rezultat scăderea concentrației de antibiotic în *Escherichia coli* (Ionete, 2012).

Efluxul activ al antibioticului din microorganism afectează în special activitatea moleculelor hidrofile. Este vorba despre norfloxacină sau ciprofloxacina. În anul 2007, un grup de cercetători de la Institutul Pasteur din Paris au descris existența unui mecanism suplimentar reprezentat de o pompă de eflux care, spre deosebire de cele deja cunoscute, este codificată de o gena numită *qepA* plasmidic mediată și care acționează printr-un mecanism selectiv (Perichon et al., 2007). La acțiunea acestei pompe de eflux s-a constatat că sunt sensibile numai fluorochinolonele hidrofile. Din această categorie fac parte norfloxacină și ciprofloxacina.

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

S-a descris existența unei proteine de rezistență la chinolone (QNR) care este codificată printr-o genă ce poartă numele qnr și care este transmisibilă orizontal prin plasmide. Gena qnr crește frecvența de selecție a mutațiilor cromozomiale și acționează aditiv cu mutațiile cromozomiale pentru a genera tulpini de *Escherichia coli* rezistente la ciprofloxacina dar conferă doar un nivel redus de rezistență la chinolone. Așa se explică rezistența la chinolone prin transfer orizontal de genă și care poate fi considerat un mecanism mai nou, diferit de mecanismele clasice de rezistență cromozomială (Luzzaro, 2008).

Aminoglicozidtransferaza reprezintă un exemplu de enzimă al cărei mecanism de acțiune este acela de a inactiva prin acetilare atât aminoglicozide cât și ciprofloxacina. De aceea putem afirma că reprezintă primul exemplu de enzimă care a suferit modificări ce o fac capabilă de a inactiva antibiotice care aparțin la două clase diferite de medicamente

### **2.1.4. Markerii de rezistență ai *Escherichia coli* la sulfametoxazol - trimetoprim**

Rezistența la sulfametoxazol - trimetoprim poate fi explicată prin mai multe mecanisme:

- alterarea enzimei,
- impermeabilizare celulară,
- superproducție de enzimă,
- modificarea inhibitorului
- scăderea capacității de legare de locul țintă,
- producerea de plasmide care transportă forme de dihidrofolat-reductază rezistente la trimetoprim. Se pare că acesta reprezintă mecanismul cu cea mai mare importanță clinică.

### **2.1.5. Markerii de rezistență ai *Escherichia coli* la tetracicline**

Cercetările privind rezistența *Escherichia coli* la tetraciclină au dus la concluzia că nu este de natură mutagenă, ci în cele mai multe cazuri se datorează dobândirii de gene de rezistență. Cele două mecanisme de rezistență la tetraciclină cunoscute până la ora actuală sunt reprezentate de:

- pompa de eflux. Din cele 33 de gene de rezistență la tetraciclină (genele tet), 23 codează pompe de eflux care permit bacteriei să transporte activ tetraciclina în afara celulei. Mecanismul de eflux activ reprezintă mecanismul relevant al *Escherichia coli*.
- mecanismul de protecție ribozomală este codificat de celelalte 10 gene proteine de protecție ribozomală.

### 2.1.6. Markeri de rezistență ai *Escherichia coli* la nitrofurantoin

S-a constatat că rezistența la nitrofurantoin în cazul *Escherichia coli* este întotdeauna redusă. Ea este dată de mutații în genele *nsfA* și *nfsB* care codifică nitroreductaze oxigen insensibile.

## 3. Rezistența la agenți antimicrobieni a Stafilococilor

În ceea ce privește infecțiile cu **Stafilococi**, acestea par a fi produse de un agent patogen microbial multirezistent la o gamă foarte largă de antibiotice utilizate în mediul spitalicesc. În România, în 2014, s-a raportat că 50% din tulpinile de *Staphylococcus aureus* izolate din hemoculturi și LCR prezentau fenotipul MRSA, multirezistent la antibiotice, dar se consideră de fapt că numărul infecțiilor intraspitalicești era mult mai mare decât cel raportat. Se constată un nivel extrem de ridicat al meticilino-rezistenței tulpinilor de *Staphylococcus aureus* (54,5%), 23,4% rezistență la rifampicină și 26,4% la fluorochinolone. Nu s-au izolat tulpini cu rezistență confirmată la linezolid sau la glicopeptide.

*Staphylococcus epidermidis* a fost mult timp considerat un microorganism comensal inofensiv pe pielea umană și pe mucoase (Chovanova et.al., 2016). Cu toate acestea, în zilele noastre el a ajuns să fie considerat un important agent patogen, fiind prevalent în infecțiile nosocomiale la pacienții nou-născuți, la bolnavii cu afecțiuni grave precum și la pacienții imunocompromiși. În plus, este frecvent izolat în cazul infecțiilor postoperatorii și în special în asocieră cu dispozitivele de protezare (Miragaia et.al. 2007). Studiile care se referă la rezistența antimicrobiană au demonstrat că aproximativ 70% din tulpinile de *Staphylococcus epidermidis* care circulă în mediul intraspitalicesc sunt rezistente la meticilină și majoritatea și la alte clase antimicrobiene. Rezistența la meticilină este cuprinsă între 75 și 90% în cazul infecțiilor cu *Staphylococcus epidermidis* la pacienții internați. Aceste procente depășesc rezistența constatată în cazul *Staphylococcus aureus* care este aproximativ 40–60% [16].

### 3.1. Markeri de rezistență ai Stafilococului

Atât în cazul *Staphylococcus epidermidis* cât și al *Staphylococcus aureus*, rezistența la antibiotice betalactaminice este mediată de:

- producția de beta-lactamază care distruge antibioticele beta-lactaminice prin mecanism hidrolitic,
- achiziția genei *mecA* care produce PBP2, o substanță cu afinitate scăzută față de antibioticele beta-lactaminice. Gena *mecA* este transportată de un element cromozomal numit casetă cromozomială stafilococică *mec* (SCC*mec*). În prezent,

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

există mai multe tipuri diferite de elemente SCCmec, cu mai multe subtipuri, caracterizate printr-o combinație unică între mec și enzima care codează complexe de gene ccr (Chovanova et.al., 2016).. În cazul *Staphylococcus epidermidis* prevalează SCCmec tip IVa și SCCmec tip III (Jamaluddin et.al., 2008). Într-un studiu efectuat în Portugalia în anul 2007, grupul condus de Miragaia a caracterizat 139 de tulpini de MRSE (stafilococ rezistent la meticilină). Rezultatele acestui studiu demonstrează faptul că 41% din tulpini poartă gena SCCmec tip IV și 27% din tulpini poartă gena SCCmec tip III, în timp ce SCCmec tipurile V, I și II au fost prezente numai la 6%, 4% și respectiv, 4% din tulpinile analizate.

Într-un studiu publicat în *International Journal of Medical Microbiology* în anul 2008, Ender și colaboratorii, susțin faptul că expresia genei mecA este inductibilă și poate fi controlată fie de regulatorii săi cunoscuți MecI (proteina care inhibă legarea ADN) și MecR1 (senzor / traductor de semnal) sau de regulatorii de structură și funcție ai beta-lactamazei BlaI și respectiv BlaR1 (Ender et.al., 2008).

Stafilococii sunt microorganismele izolate cel mai frecvent, reprezentând aproape 30% din totalul infecțiilor intraspitalicești și 50% în cazul infecțiilor sanguine. Stafilococul auriu meticilinrezistent (MRSA) este recunoscut ca o bacterie major patogenă și a fost asociat cu transmiterea intraspitalicească și interspitalicească. În plus, stafilococii coagulazo-negativi sunt de asemenea cunoscuți ca fiind cel mai frecvent întâlniți în hemoculturi. Identificarea rapidă și precisă a MRSA direct din probele de sânge ale pacientului oferă date pentru decizii medicale adecvate cu privire la terapia antimicrobiană, care joacă un rol important în reducerea deceselor cauzate de sepsis. În prezent, metoda standard pentru diagnosticarea prezenței agenților patogeni bacterieni în probele clinice este cultura bacteriană. Dar această tehnică prezintă unele dezavantaje în ceea ce privește viteza și sensibilitatea de detectare (Wang et.al., 2014). În general, probele de cultură de sânge sunt incubate timp de 5 zile, adică o perioadă lungă de timp și în plus, se pot obține rezultate fals-negative atunci când bacteriile se dezvoltă rapid sau când probele se obțin după ce antibioterapia a fost începută deja. Diagnosticul precoce și tratamentul adecvat al infecțiilor bacteriene are un impact extraordinar asupra rezultatelor pentru pacienții cu infecții sistemice.

PCR în timp real este semnificativ mai rapid decât PCR convențional și decât alte metode de detectare. Combinația între sensibilitatea excelentă, specificitatea crescută, riscul scăzut de contaminare și viteza mare a făcut ca tehnologia PCR în timp real să fie o metodă atrăgătoare pentru laboratoarele de microbiologie clinică (Espy et. al., 2006).

În anul 2014 Wang și colaboratorii au publicat un studiu în *Journal of Clinical Microbiology* privind detecția rapidă a Stafilococilor meticilinorezistenți din hemoculturi pozitive. În cazul pacienților aflați în această situație, diagnosticul rapid și tratamentul sepsisului bacterian sunt necesare pentru a reduce rata mortalității și a morbidității, deoarece evoluția rapidă le poate pune viața în pericol. În acest studiu s-a aplicat metoda PCR în timp real pentru culturi de stafilococ auriu și pentru detectarea și identificarea rapidă de MRSA, MSSA (stafilococ auriu susceptibil la meticilină), MRCoNS (stafilococi coagulazo-negativi meticilinorezistenți) și MSCoNS (stafilococi coagulazo-negativi susceptibili la meticilină CoNS) direct din hemoculturile pozitive. Concluzia acestui studiu este că utilizarea testului

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

PCR în timp real a furnizat rezultate rapide, foarte sensibile și specifice pentru detectarea speciilor MRSA, MSSA, MSCoNS și MRCoNS direct din hemoculturile pozitive. Cu toate că această metodă are costuri semnificativ crescute comparativ cu metodele clasice de diagnostic, în anumite situații în care urgența o impune, ea poate furniza informații esențiale pentru a accelera decizia terapeutică și pentru aplicarea precoce a tratamentului adecvat cu antibiotice în faza acută a sepsisului.

### Bibliografie

1. Bronzwaer S, Lonnroth A, Haigh R. The European Community strategy against antimicrobial resistance. *Euro Surveill.* 2004; 9: 30-34.
2. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr. Opin. Microbiol.* 2006; 9: 466-475.
3. Chovanová R, Mikulášová M, Vaverková, Modulation of *mecA* Gene Expression by Essential Oil from *Salvia sclarea* and Synergism with Oxacillin in Methicillin Resistant *Staphylococcus epidermidis* Carrying Different Types of Staphylococcal Chromosomal Cassette *mec*, Hindawi Publishing Corporation, International Journal of Microbiology, Volume 2016, Article ID 6475837, 10 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6475837>
4. M. Ender, N. McCallum, and B. Berger-Bachi, "Impact of *mecA* promoter mutations on *mecA* expression and  $\beta$ -lactam resistance levels" *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 298, no. 7-8, pp. 607-617, 2008.
5. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, Yao JD, Wengenack NL, Rosenblatt JE, Cockerill FR, III, Smith TF. 2006. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006, 19:165-256.
6. Fluit AC, Schmitz FJ. Resistance integrons and superintegrons. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10: 272-288.
7. Ho PL, Wong RC, Lo SW, Chow KH, Wong SS, Que TL. Genetic identity of aminoglycoside resistance genes in *Escherichia coli* isolates from human and animal sources. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 6): 702-707.
8. Ionete IM, Cercetări farmacoepidemiologice asupra rezistenței la antibiotice a tulpinilor uropatogene de *Escherichia Coli*, Craiova 2012, rezumatul tezei de doctorat
9. T. Jamaluddin, K. Kuwahara-Arai, K. Hisata et al., "Extreme genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strains disseminated among healthy Japanese children," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 46, no. 11, pp.3778-3783, 2008.
10. Luzzaro F. Fluorochinoloni e Gram-negativi: differenze di attività e nuove evidenze sui meccanismi di resistenza Fluoroquinolones and Gram-negative bacteria: antimicrobial activity and mechanisms of resistance *Le Infezioni in Medicina*, Supplemento 2, Vol. 16, Aprile 2008, 5-11.

## Identificarea unor markeri ce facilitează identificarea și abordarea rezistenței la agenți

---

11. M.Miragaia, J. C. Thomas, I. Couto, M. C. Enright, and H. De Lencastre, "Inferring a population structure for *Staphylococcus epidermidis* from multilocus sequence typing data" *Journal of Bacteriology*, vol. 189, no. 6, pp. 2540–2552, 2007.
12. Pèrichon B., Courvalin P., Galimand M. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51, 7: 2464-2469.
13. Pitout JD, Gregson DB, Campbell L, Laupland KB. Molecular characteristics of extended - spectrum beta-lactamase - producing *Escherichia coli* isolates causing bacteremia in the Calgary Health Region from 2000 to 2007: emergence of clone ST131 as a cause of community-acquired infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(7): 2846-2851.
14. Roe MT, Vega E, Pillai SD. Antimicrobial resistance markers of class 1 and class 2 integron-bearing *Escherichia coli* from irrigation water and sediments. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9: 822-826.
15. Strahilevitz J, Jacoby GA, David C. Hooper and Ari Robicsek Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: a Multifaceted Threat *Clin. Microbiol. Rev.* 2009, 22(4):664-670.
16. H Wang, S Kim, J Kim, S Park, Y Uh, H Leeb, Multiplex Real-Time PCR Assay for Rapid Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococci* Directly from Positive Blood Cultures, 2014, *Journal of Clinical Microbiology*, Volume 52, Number 6, p. 1911–1920
17. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol.* 2008; 85(1): 11-19.
18. Wise R. Antimicrobial resistance: priorities for action. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002; 49: 585-586.
19. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/>
20. <http://insp.gov.ro/sites/cnepss/wp-content/uploads/2016/01/ANALIZA-DE-SITUATIE-2015.pdf>