

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. LILIANA MARY VOINEA**

**Student-doctorand:**

**POPA-CHERECHANU MATEI-ȘERBAN**

2022

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**DOMENIUL MEDICINĂ**

***PROFILUL REZISTENȚEI LA ANTIBIOTICE  
A GERMENILOR IDENTIFICAȚI ÎN  
SECREȚIILE CONJUNCTIVALE***

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. LILIANA MARY VOINEA**

**Student-doctorand:**

**POPA-CHERECHANU MATEI-ȘERBAN**

2022

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

***PROFILUL REZISTENȚEI LA ANTIBIOTICE  
A GERMENILOR IDENTIFICAȚI ÎN  
SECREȚIILE CONJUNCTIVALE  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT***

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. LILIANA MARY VOINEA**

**Student-doctorand:**

**POPA-CHERECHEANU MATEI-ȘERBAN**

2022

*Motto:*

***"The thoughtless person playing with penicillin treatment is morally responsible for the death of the man who succumbs to infection with the penicillin-resistant organism."***

***"Persoana necugetată care se joacă cu tratamentul cu penicilină este responsabilă din punct de vedere moral pentru moartea pacientului cu infecție cu germen rezistent la penicilină."***

*Sir Alexander Fleming, câștigătorul Premiului Nobel, 1945*

# CUPRINS

CUPRINS.....	4
ABREVIERI:.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
INTRODUCERE.....	7
CAPITOLUL 1.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
MECANISMELE MOLECULARE ALE REZISTENȚEI LA ANTIBIOTICE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1. ȚINTELE PRINCIPALELOR CLASE DE ANTIBIOTICE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.1. SINTEZA PERETELUI CELULAR BACTERIAN .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.2. SINTEZA PROTEICĂ.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.3. REPLICAREA ȘI REPARAREA ADN .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.4. STRATEGIA BACTERIANĂ DE COMBATERE A EFECTELOR ANTIBIOTICELOR.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.5. POMPELE DE EFLUX BACTERIENE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.6. MODIFICAREA STRUCTURII ANTIBIOTICULUI .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.7. MODIFICAREA ȚINTEI ANTIBIOTICULUI .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.8. DEZVOLTAREA DE NOI ANTIBIOTICE CE DEPĂȘESC MECANISMELE DE REZISTENȚĂ .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.9. STRATEGII PENTRU EXTINDEREA DURATEI DE VIAȚĂ A ANTIBIOTICELOR.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 2.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
SITUAȚIA REZISTENȚEI MICROBIENE LA ANTIBIOTICE LA NIVELUL EUROPEI ȘI AL ROMÂNIEI .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 3.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ANTIBIOTICELE ÎN PRACTICA OFTALMOLOGICĂ.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.1. REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE – UN MOTIV DE ÎNGRIJORARE .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.2. FLORA MICROBIANĂ IMPLICATĂ ÎN INFECȚIILE SUPRAFETEI OCULARE .....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.2.1. EPIDEMIOLOGIE.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2. MICROORGANISME IMPLICATE.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.3. FLUOROCHINOLONELE.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.4. SOLUȚIILE FORTIFIATE DE ANTIBIOTICE.....	Error! Bookmark not defined.
2.3. PROFILAXIA ANTIMICROBIANĂ ÎN CHIRURGIA CATARACTEI.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.3.1. EPIDEMIOLOGIE.....	Error! Bookmark not defined.

2.3.2. MICROORGANISME IMPLICATE.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.3.3. PROFILAXIA TOPICĂ.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.3.4. PROFILAXIA INTRAOCULARĂ.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>CAPITOLUL 4.....</b>	<b>8</b>
<b>FLORA MICROBIANĂ ȘI REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE ÎN OFTALMOLOGIE ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>	
4.1. FLORA BACTERIANA OCULARĂ.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
4.2. REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A GERMENILOR IDENTIFICAȚI LA NIVEL OCULAR <b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>	
4.3. DIFICULTĂȚI ÎN EVALUAREA REZISTENȚEI ÎN OFTALMOLOGIE.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
4.4. REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE ÎN STUDIILE TRUST ȘI ARMOR.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Haemophilus influenzae</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<i>Stafilococi coagulazo-negativi (CoNS) și Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5. PREVENIREA RĂSPÂNDIRII REZISTENȚEI BACTERIENE ÎN PRACTICA OFTALMOLOGICĂ.....	<b>ERROR!</b>
<b>BOOKMARK NOT DEFINED.</b>	
4.5.1. DOZAREA SUBTERAPEUTICĂ.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5.2. FOLOSIREA ANTIBIOTICULUI POTRIVIT.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5.3. FOLOSIREA ANTIBIOTICELOR DOAR ATUNCI CÂND ADUC UN BENEFICIU EVIDENT.....	<b>Error!</b>
<b>Bookmark not defined.</b>	
4.5.4. ALTERNATIVE LA ANTIBIOTICE.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5.5. CONCLUZII.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
<b>CAPITOLUL 5.....</b>	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE.....	10
STUDIUL I.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
STUDIUL RAGS 1 – REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A GERMENILOR DIN SECREȚIILE CONJUNCTIVALE 1.....	11
5. 1. MATERIAL ȘI METODE.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
5.2. REZULTATE.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
5.3. DISCUȚII.....	14
5.4. LIMITELE STUDIULUI.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
5.4. CONCLUZII.....	15
<b>CAPITOLUL 6.....</b>	<b>17</b>
STUDIUL II.....	17
STUDIUL RAGS 2 – REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A GERMENILOR DIN SECREȚIILE CONJUNCTIVALE 2.....	17
6.1. MATERIAL ȘI METODE.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
6.2. REZULTATE.....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>

6.3. DISCUȚII .....	21
6.4. LIMITELE STUDIULUI .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
6.5. CONCLUZII .....	21
<b>CAPITOLUL 7 .....</b>	<b>23</b>
STUDIUL III .....	23
STUDIUL RAGS 1 VERSUS STUDIUL RAGS 2 .....	23
7. 1. INTRODUCERE .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
7. 2. MATERIAL ȘI METODE .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
7.3. REZULTATE .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
7.4. DISCUȚII .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
7.5. LIMITELE STUDIULUI .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
7.6. CONCLUZII .....	23
<b>CAPITOLUL 8.....</b>	<b>25</b>
8.1. CONCLUZII .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
8. 2. CONTRIBUȚII PERSONALE .....	27
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXA 1</b>	
<b>ANEXA 2</b>	
<b>ANEXA 3</b>	
<b>ANEXA 4</b>	





## INTRODUCERE

Infecțiile produse de către microorganismele multidrog-rezistente sunt asociate cu creșterea mortalității comparativ cu acelea cauzate de bacteriile sensibile, având și un impact economic important, estimat la peste 20 miliarde de dolari anual doar în Statele Unite. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimează că cel puțin 23.000 persoane mor anul în Statele Unite în urma unei infecții cu un microorganism rezistent (CDC, 2013; CDC, 2016). Mai mult, conform unui raport recent, se estimează că rezistența la antibiotice ar urma să determine 300 milioane de decese premature până în 2050, cu o pierdere de aproximativ 100 trilioane de dolari pentru economia globală (CDC, 2013; Demirjian, 2015). Situația este înrăutățită de lipsa unui arsenal robust de antibiotice noi, rezultând astfel infecții aproape fără tratament, lăsându-i pe clinicieni fără alternative viabile de a-și trata pacienții.

Ca răspuns la pericolul creșterii rezistenței la antibiotice la nivel global, Organizația Mondială a Sănătății, United States Food and Drug Administration și alte organizații mari au dezvoltat programe de supraveghere ce colectează date din SUA și restul lumii (Walsh, 1996).

Două astfel de inițiative sunt de un interes particular în domeniul oftalmologiei – Ocular Tracking Resistance in the U.S. Today (TRUST) și Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR) (Davies, 1994; Schentag, 1998; Levy, 1992).

TRUST este un program de supraveghere multicentric de pe teritoriul Statelor Unite ale Americii, început în 1996, în cadrul căruia izolate din peste 200 de laboratoare sunt trimise către un laborator central independent pentru testarea in vitro a susceptibilității. Un substudiu a fost inițiat în 2005 (Ocular TRUST 1) dorind să adune prospectiv date în fiecare an, cât și să analizeze retrospectiv probe din anii anteriori. Studiul TRUST analizează specific trei microorganisme: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. *S. aureus* fiind ulterior împărțit în metilino-sensibil (*MSSA*) sau metilino-rezistent (*MRSA*) (Paulsen, 1996).

Studiul ARMOR este un program de supraveghere similar realizat în mod specific pentru supravegherea agenților patogeni oculari de pe teritoriul Statelor Unite. Rezultatele inițiale ale studiului ARMOR bazate pe izolatele colectate de la 34 de instituții pe parcursul anului 2009 au fost publicate în 2011 (ARMOR 2009), iar datele dintre anii 2009-2013 (ARMOR 2013) au fost publicate în 2017. Studiul ARMOR extinde datele colectate de studiile TRUST prin analiza suplimentară a *Pseudomonas aeruginosa* și a stafilococilor coagulazo-

negativi (CoNS). Studiul ARMOR 2013 a analizat un total de 3237 de izolate, reprezentând cel mai mare studiu de acest gen până la această dată.

În tabelul I. sunt puse în evidență nivelurile de rezistență întâlnite în studiile TRUST și ARMOR.

Bacterie		Penicilină	Azitromicină	Gatifloxacin	Moxifloxacin	Levofloxacin	Ofloxacin	Tobramicină	Ciprofloxacin
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	TRUST retrospectiv	34.1%	33.4%	0.3%	0.1%	0.1%		95.1%	9.7%
	TRUST prospectiv	18.3%	22.4%	0%	0%	0%		98%	10.2%
	ARMOR	31.8%	34.8%	0.4%	0.3%	0%	0.4%		
MS <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	TRUST prospectiv	90.2%	45.7%	18.9%	18.9%	18.9%		7.3%	20.1%
	ARMOR		42.8%	13.5%	12%	13.7%	14.1%	4.1%	14.2%
MR <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	TRUST prospectiv	100%	93.9%	84.8%	84.8%	84.9%		63.6%	84.8%
	ARMOR		93.3%	75.1%	74%	75.9%	76.4%	44.3%	77.3%
MS stafilococi coagulazo-negativi	ARMOR		44.7%	13.9%	13.6%	13.9%	14.2%	6.4%	15%
MR stafilococi coagulazo-negativi	ARMOR		78.3%	55.7%	51.2%	56.8%	56.9%	23.1%	
<i>H. influenzae</i>	TRUST retrospectiv	100%	0.3%	0.3%	0.3%	0.3%		0%	
<i>P. aeruginosa</i>	ARMOR					6.9%	10.1%	3.1%	

**Tabelul I.** Procentul de bacterii rezistente în studiile TRUST și ARMOR (preluat din Grzybowski, 2017)

## IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE

Profilul de rezistență bacteriană la antibiotice poate varia în funcție de localizarea geografică, astfel că nu întotdeauna schemele de terapie antibiotică din ghidurile de specialitate sunt aplicabile în totalitate în toate regiunile globului, în orice țară sau în orice centru de diagnostic și tratament, putând exista variații de la o țară la alta sau chiar între centre aparținând aceleiași regiuni geografice restrânse. De aceea, este important să cunoaștem particularitățile locale astfel încât tratamentul să poată fi adaptat corespunzător, pentru a se obține succesul terapeutic, un grad de vindecare a pacientului cât mai înalt și cât mai aproape de *restitutio ad integrum*, dar și pentru a combate dezvoltarea de noi rezistențe bacteriene la antibiotice prin aplicarea unor presiuni de selecție inadecvate asupra bacteriilor.

În cadrul acestei teze de doctorat am desfășurat două studii, denumite **RAGS 1** și **RAGS 2 (Rezistența la Antibiotice a Germenilor din Secrețiile conjunctivale 1 și 2)**.

Scopul principal al acestor două studii este de a compara profilul rezistenței bacteriilor izolate din secrețiile conjunctivale de la nivelul a două centre de practică oftalmologică din București cu cel al bacteriilor izolate într-un studiu major realizat în Statele Unite ale Americii. Studiul cu care ne-am propus să comparăm rezultatele noastre este ARMOR 2013.

În plus, ne-am propus să comparăm flora depistată în cele două studii și rezistența/sensibilitatea acelorași germeni în două centre diferite, apropiate ca distanță, din aceeași localitate, încercând să analizăm elementele comune și elementele care le diferențiază.

Studiul RAGS 1 s-a desfășurat în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București, fiind colectate datele pacienților internați în regim de spitalizare continuă în intervalul 2014-2018. Ca specific al Clinicii de Oftalmologie din Spitalul Universitar de Urgență București predomină patologia de urgență, pacienții internați fiind pacienți simptomatici din punct de vedere ocular, cărora li care s-au recoltat secreții conjunctivale în vederea stabilirii etiologiei bolii oculare și conduitei terapeutice.

Studiul RAGS 2 s-a desfășurat în Clinica de Oftalmologie Ocularcare București, fiind datele pacienților fiind colectate în același interval de timp, pentru a evita ca factor de eroare orice modificare în timp a florei bacteriene. Ca specific al Clinicii Ocularcare predomină patologia cronică, pacienții la care s-au recoltat secreții conjunctivale fiind în marea lor majoritate pacienți asimptomatici sau paucisimptomatici, iar recoltarea s-a făcut ca investigație preoperatorie în vederea unei intervenției chirurgicale programate.

## PARTEA SPECIALĂ

### CAPITOLUL 5

#### STUDIUL I - STUDIUL RAGS 1 – Rezistența la Antibiotice a Germenilor din Secrețiile Conjunctivale 1

Au fost analizate un număr total de 1591 de probe provenind de la pacienți diferiți, recoltate între anii 2014-2018.

În culturile pozitive analizate, au fost izolate următoarele bacterii: *Bacillus* spp, *Enterobacter* spp, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp.

Stafilococii au fost împărțiți ulterior în *Staphylococcus aureus* (meticilino-sensibil MSSA / metilino-rezistent MRSA), respectiv stafilococi coagulazo-negativi (la fel, metilino-sensibili MS CoNS / metilino-rezistenți MR CoNS).

Asupra bacteriilor marcate cu **bold** în tabelul V.5. ne vom opri cu un interes special, întrucât ele fac parte din setul de bacterii analizate și în studiile ARMOR și TRUST, cu care ne propunem să comparăm rezultatele noastre.

**Tabelul V.5.** Distribuția bacteriilor izolate din secrețiile conjunctivale

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Bacillus spp	1	0.1	0.1	.4
Enterobacter spp	8	0.9	0.9	1.3
Enterococcus faecalis	1	0.1	0.1	1.4
Escherichia coli	10	1.2	1.2	2.6
Klebsiella spp	31	3.6	3.6	6.2
<b>MR CoNS</b>	93	10.9	10.9	17.2
<b>MRSA</b>	180	21.2	21.2	38.3
<b>MS CoNS</b>	121	14.2	14.2	52.5
<b>MSSA</b>	348	40.9	40.9	93.4
Proteus spp	9	1.1	1.1	94.5
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	45	5.3	5.3	99.8
Serratia spp	1	0.1	0.1	99.9
Streptococcus spp	1	0.1	0.1	100.0
Total	<b>851</b>	100.0	100.0	

În culturile analizate, MRSA a fost izolat de 180 ori (21.2%), MSSA de 348 ori (40.9%), MR CoNS de 93 ori (10.9%), MS CoNS de 121 ori (14.2%), Pseudomonas aeruginosa de 45 ori (5.3%).

În tabelul V.6. se găsește o analiză a antibioticelor folosite în cadrul antibiogramelor. Ea include variabile precum numărul și procentul testărilor care au fost realizate cu acel antibiotic, numărul de probe netestate la respectivul antibiotic, numărul și rata izolatelor sensibile/rezistente la antibiotic.

În tabel au fost incluse doar antibioticele care au fost testate în peste 5% din totalul probelor pozitive, cele sub acest prag nefiind incluse.

Antibiotic	Testări cu antibioticul	Netestate	Sensibil	Rezistent	% testări din culturi pozitive	% culturi sensibile din cele testate	% culturi rezistente din cele testate
Tobramicină	764	87	532	222	89.8%	69.6%	29.1%
Rifampicină	735	116	669	64	86.4%	91%	8.7%
Cloramfenicol	726	125	529	196	85.3%	72.9%	27%
Gentamicină	704	147	455	240	82.7%	64.6%	34.1%
Cefoxitin	703	148	448	255	82.6%	63.7%	36.3%
Kanamicină	685	166	310	368	80.5%	45.3%	53.7%
Ciprofloxacin	685	166	483	198	80.5%	70.5%	28.9%
Eritromicină	534	317	177	357	62.7%	33.1%	66.9%
Doxiciclină	464	387	273	190	54.5%	58.8%	40.9%
Tetracilină	372	479	169	203	43.7%	45.4%	54.6%
Vancomicină	366	485	366	0	43%	100%	0%
Teicoplanină	337	514	335	2	39.6%	99.4%	0.6%
Neomicină	298	553	194	103	35%	65.1%	34.6%
Clindamicină	233	618	168	65	27.4%	72.1%	27.9%
Oxacilină	218	633	129	89	25.6%	59.2%	40.8%
Claritromicină	201	650	92	108	23.6%	45.8%	53.7%
Ofloxacin	144	707	112	30	16.9%	77.8%	20.8%
Linezolid	108	743	108	0	12.7%	100%	0%
Ceftazidim	103	748	62	40	12.1%	60.2%	38.8%
Amoxicilină + Acid clavulanic	92	759	30	62	10.8%	32.6%	67.4%
Cefuroxim	79	772	21	58	9.3%	26.6%	73.4%
Amikacină	73	778	68	5	8.6%	93.2%	6.8%

Tabelul V.6. Analiza antibioticelor folosite în cadrul antibiogramei

Tabelul este ordonat după rata testărilor, cel mai testat antibiotic în cadrul antibiogramei fiind Tobramicina (89.8%). Alte antibiotice cum sunt Rifampicina, Cloramfenicolul, Gentamicina, Cefoxitinul, Kanamicina și Ciprofloxacina au fost și ele testate în peste 80% din totalul izolatelor. La celălalt capăt al spectrului se află Amikacina, testată în doar 8.6% din antibiograme.

S-a analizat rezistența bacteriilor studiate la diferite antibiotice și s-a făcut comparație cu rezultatele obținute în studiul ARMOR, plecând de la ipoteza nulă că există diferențe între rezistența la antibiotice în cele două cohorte studiate și s-a evaluat semnificația statistică a acestor diferențe.

### **5.2.1. Analiza rezultatelor din studiul RAGS 1 comparativ cu studiul ARMOR:**

Am efectuat analiza între studiul RAGS 2 și studiul ARMOR, pentru a valida observația conform căreia există diferențe statistice în ceea ce privește rezistența la antibioticele de interes a germenilor studiați.

## **5.3. DISCUȚII**

Un prim aspect ce ar trebui discutat este legat de absența *Haemophilus influenzae* și a *Streptococcus pneumoniae* în probele analizate pe parcursul celor 5 ani studiați (2014-2018). Ambele bacterii se regăsesc în studiul ARMOR, așadar nu a fost posibilă o comparație referitoare la acești germeni. O singură cultură a fost pozitivă pentru streptococ, însă specia din care acesta face parte nu a fost menționată în rezultatul laboratorului.

Distribuția procentuală a probelor pozitive pe parcursul celor 5 ani s-a menținut relativ constantă. Având în vedere acest lucru, faptul că distribuția izolatelor de MRSA pe parcursul celor 5 ani s-a menținut și ea relativ constantă ne face să putem afirma că nu a existat o creștere a ratei MRSA de la un an la altul. Constatăm în schimb că rata MSSA este în scădere în 2018 (28.3%) comparativ cu punctul de plecare al anului 2014 (59.6%). Distribuția izolatelor de *Pseudomonas aeruginosa* s-a menținut de asemenea constantă.

În studiul RAGS 1 desfășurat la nivelul secției de oftalmologie din cadrul Spitalului Universitar de Urgență București procentele de rezistență la Cloramfenicol sunt semnificativ mai mari față de cele înregistrate în studiul ARMOR pentru toată gama de stafilococi analizată, atât coagulazo-pozitivi (MRSA/MSSA), cât și coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS).



În cazul stafilococilor coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS), studiul nostru a obținut rate mai mari de rezistență față de studiul ARMOR și în cazul Tobramicinei (68.3% vs 14.4% pentru MR CoNS, respectiv 26.3% vs 2% pentru MS CoNS). O diferență mare a rezistențelor la Tobramicină s-a obținut și în cazul *Pseudomonas aeruginosa* (39.5% vs 3.1%). Aceste constatări sunt importante întrucât Tobramicina poate fi folosită în combinație cu Vancomicina în cazul keratitelor, tocmai datorită concentrațiilor bune pe care le atinge la nivel cornean.

În infecțiile cu *Pseudomonas aeruginosa* una dintre alternativele terapeutice cunoscute a fi eficiente este cu unele cefalosporine de generație a III-a (Ceftazidim). Rezistența *P. aeruginosa* la Ceftazidim în studiul nostru este de 47.7%, aproape una din două culturi pozitive pentru această bacterie fiind rezistentă.

O diferență semnificativă între ratele de rezistență la antibiotice ale MRSA între studiul nostru și ARMOR se referă la Clindamicină (69.2% vs 30.8%). Aceeași diferență semnificativă a rezistenței la Clindamicină o regăsim și pentru MSSA (29.6% vs 6.5%). Nu același lucru se poate spune însă despre MR CoNS respectiv MS CoNS, situații în care procentele sunt foarte similare. Așadar, se pare că *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) are o rată mai mare de rezistență la clindamicină la nivelul centrului din București în care a fost realizat studiul comparativ cu rata de obținută în studiul ARMOR.

#### 5.4. CONCLUZII

1. Vârsta medie a pacienților din lotul studiat a fost 61.47 ani, pacienții având vârste cuprinse între 1 și 93 ani.
2. Din punct de vedere al distribuției pe sexe a lotului de studiu de pacienți cu secreții conjunctivale depistate pozitive, acestea au fost reprezentate în mod aproape egal: 50.23% - bărbați și 49.77% femei.
3. Procentual, nu a existat o variație mare în timp, pe ani, a probelor depistate pozitive la culturile din secrețiile conjunctivale recoltate, din totalul probelor analizate, situându-se în jurul valorii de 20%. Procentele au variat între 17.9% - 2017 și 21.5% - 2018. Semnificația ar putea fi reprezentată de o stabilitate procentuală în tipurile de cazuri internate care necesită testarea secreției conjunctivale în Clinica de Oftalmologie a SUUB.
4. Cel mai frecvent secrețiile conjunctivale pozitive au fost depistate în intervalul de vârstă 65-75 de ani.

5. În culturile analizate, MRSA a fost izolat de 180 ori (21.2%), MSSA de 348 ori (40.9%), MR CoNS de 93 ori (10.9%), MS CoNS de 121 ori (14.2%), *Pseudomonas aeruginosa* de 45 ori (5.3%). Toate celelalte bacterii rămase au fost izolate fiecare într-un procent mai mic de 5%.
6. Procentul cel mai mare de probe pozitive pentru MRSA pe parcursul anilor analizați (2014-2018), a fost înregistrat în anul 2016 (32.8%), iar cel mai mic în anul 2015 (8.5%), în restul anilor procentele variind în jurul valorii de 21%, adică 1/5 din secrețiile depistate pozitive.
7. În ceea ce privește distribuția procentuală a probelor de MSSA în perioada studiului, în anul 2014 izolatele MSSA au reprezentat 59.6% - valoarea maximă - din totalul culturilor pozitive, 17.6% în anul 2015 - valoarea minimă, 49.4% în anul 2016, 39.9% în anul 2017 și 28.3% în 2018. Fluctuația acestora în timp a fost net superioară MSSA.
8. În anul 2015 s-a înregistrat un număr foarte mare de MR CoNS și MS CoNS comparativ cu ceilalți germeni identificați. Nu am putut emite o explicație pertinentă pentru aceste valori izolat crescute ale MR CoNS și MS CoNS.
9. Nivelul izolatelor de *Pseudomonas aeruginosa* a suferit variații mici pe parcursul celor 5 ani de studiu, cel mai mare număr fiind înregistrate în anul 2014 și cel mai mic în 2015.
10. Rezistența *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) are un comportament diferit: MRSA înregistrează în studiul RAGS 1 rezistență totală la Oxacilină și Cefoxitin și cvasitotală la Eritromicină; MSSA înregistrează în același studiu RAGS 1 rezistențe mai puțin mari la antibioticele studiate.
11. O situație asemănătoare se înregistrează în cazul rezistenței stafilococilor coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS): MR CoNS prezintă rezistență totală/cvasitotală la Oxacilină și Cefoxitin, și rezistență importantă la Kanamicină, Eritromicină, Gentamicină, Clitromicină ș.a.; în același interval de timp MS CoNS nu prezintă rezistență atât de înaltă la antibioticele studiate.
12. *Pseudomonas aeruginosa* prezintă rezistență totală/cvasitotală la Amoxicilină+acid clavulanic, Cefalexin, Cefuroxim, Kanamicină și importantă la Doxiciclină și Cloramfenicol. *Pseudomonas aeruginosa* prezintă o rezistență crescută la Ceftazidim, antibiotic cunoscut activ pe această bacterie.
13. În ceea ce privește rezistența comparativă a germenilor de interes MRSA, MSSA, stafilococii coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS) în studiile RAGS 1 și ARMOR

la Vancomicină, nici în studiul nostru și nici în ARMOR nu a fost întâlnit niciun izolat de MRSA rezistent la **Vancomicină** (VRSA).

14. Rezistența MRSA, MSSA, stafilococilor coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS) la **Cloramfenicol** este aproape nulă în studiul ARMOR și prezintă în procent important în studiul RAGS 1, această diferență fiind semnificativă statistic pentru toate categoriile de germeni menționate.
15. Rezistența stafilococilor coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS) la **Tobramicină** obținută în studiul RAGS 1 este semnificativ statistic mai mare față de cea înregistrată în studiul ARMOR. Acest rezultat pune întrebări legate de tratamentul afecțiunilor oculare bacteriene, mai ales a celor severe.
16. Rezistența stafilococilor coagulazo-negativi (MR CoNS/MS CoNS) la **Ciprofloxacina** obținută în studiul RAGS 1 este nesemnificativă statistic în cazul MR CoNS și semnificativ statistic mai mare în cazul MS CoNS față de cea înregistrată în studiul ARMOR.
17. Rezistența *Pseudomonas aeruginosa* la **Tobramicină** obținută în studiul nostru este mai mare față de cea înregistrată în studiul ARMOR, rezistență nevalidată pentru rezistența la Ciprofloxacina.

## CAPITOLUL 6

### STUDIUL II - STUDIUL RAGS 2 – Rezistența la Antibiotice a Germenilor din Secrețiile Conjunctivale 2

Au fost analizate un număr total de 1923 de probe provenind de la pacienți diferiți, recoltate între anii 2014-2018.

Asupra bacteriilor marcate cu **bold** în tabelul VI.5. ne vom opri cu un interes special, întrucât ele fac parte din setul de bacterii analizate și în studiile ARMOR și TRUST, cu care ne propunem să comparăm rezultatele noastre.

**Tabelul VI.5.** Tipurile de germeni identificați în culturile pozitive din secrețiile conjunctivale

Tipurile de bacterii identificate					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Corynebacterium	3	1.0	1.0	1.0
	E. coli	3	1.0	1.0	1.9
	Enterococcus spp	9	2.9	2.9	4.9
	Klebsiella spp	15	4.9	4.9	9.7
	Proteus spp	18	5.8	5.8	15.5
	<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	3	1.0	1.0	16.5
	<b>MRSA</b>	9	2.9	2.9	19.4
	Serratia marcescens	3	1.0	1.0	20.4
	<b>MSSA</b>	186	60.2	60.2	80.6
	<b>Stafilococi CoN</b>	54	17.5	17.5	98.1
	Streptococcus spp	6	1.9	1.9	100.0
	Total	309	100.0	100.0	

În tabelul VI.6. se găsește o analiză a antibioticelor folosite în cadrul antibiogramei. Ea include variabile precum numărul și procentul testărilor care au fost realizate cu acel antibiotic și numărul de probe netestate la respectivul antibiotic din totalul probelor pozitive.

În tabel au fost incluse doar antibioticele care au fost testate în peste 5% din totalul probelor pozitive, cele sub acest prag nefiind incluse/amintite în expunerea rezultatelor. Tabelul este ordonat după rata testărilor, cel mai testat antibiotic în cadrul antibiogramei fiind Gentamicina (75.7%). Alte antibiotice cum sunt Ciprofloxacina, Trimetoprim-Sulfametoxazole, Ampicilină+Acid Clavulanic, Cefalosporinele de generația a 2-a, Eritromicina, Penicilină au fost și ele testate în peste 50% din totalul izolatelor. La celălalt capăt al spectrului se află Kanamicina (dintre antibioticele folosite curent în oftalmologie), testată în doar 6.8% din antibiograme.

## **Analiza rezultatelor din studiul RAGS 2 comparativ cu studiul ARMOR:**

În mod asemănător cu analiza statistică comparativă între studiul RAGS 1 și studiul ARMOR s-a efectuat analiza între studiul RAGS 2 și studiul ARMOR, pentru a valida observația conform căreia există diferențe statistice în ceea ce privește rezistența la antibioticele de interes a germenilor studiați.

### **6.4. DISCUȚII**

Un prim aspect ce ar trebui discutat este legat de absența *Haemophilus influenzae* și a *Streptococcus pneumoniae* în probele analizate pe parcursul celor 5 ani studiați (2014-2018). Ambele bacterii se regăsesc în studiul ARMOR, așadar nu am putut face o comparație referitoare la acești germeni. De asemenea, stafilococii coagulazo-negativi au fost tratați ca un grup unic, neexistând subîmpărțirea în MR CoNS și MS CoNS, așa cum apare în studiul ARMOR, ceea ce a determinat ca analiza statistică să nu fie făcute pe subgrupe, ci pe lotul total de izolate de stafilococi coagulazo-negativi.

O diferență notabilă între ratele de rezistență la antibiotice ale MRSA între studiul nostru și ARMOR se referă la Ciprofloxacină (33.3% vs 76.1%) și la Ofloxacină (0% vs 75.9%). Aceeași diferență semnificativă a rezistenței la Ciprofloxacină și Ofloxacină o regăsim și pentru MSSA (4.4% vs 13.3%, respectiv 25% vs 13.9%). Același lucru se poate spune însă despre Staf CoNS, situații în care procentele se inversează (27.3% vs 14.4%). Așadar, se pare că *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) are o rată mai mică de rezistență la Ciprofloxacină în studiul RAGS 2 (efectuat pe pacienți de la nivelul unui centru privat din București) comparativ cu rata de rezistență raportată pe teritoriul Statelor Unite ale Americii în studiul ARMOR.

De asemenea, la nivelul acestui centru din București procentele de rezistență la Cloramfenicol sunt foarte variabile față de cele înregistrate în studiul ARMOR pentru toată gama de stafilococi analizată, atât coagulazo-pozitivi (MRSA/MSSA), cât și coagulazo-negativi (Staf CoN).

În cazul stafilococilor coagulazo-pozitivi (MRSA/MSSA), studiul nostru a obținut rate ușor mai mari de rezistență față de studiul ARMOR și în cazul Tobramicinei (50% vs 40.6% pentru MRSA, respectiv 4.3% vs 4% pentru MSSA).

**Tabelul VI.6.** Analiza antibioticelor folosite în cadrul antibiogramelor

Antibiotic	Testări cu antibioticul	% testări din culturi pozitive	Netestate	% netestate	Total culturi pozitive
Gentamicină	234	75.7%	75	24,3%	309
Ciprofloxacină	216	69.9%	93	30,1%	309
Sulfametoxazol	180	58.3%	129	41,7%	309
Amoxicilină+acid clavulanic	174	56.3%	135	43,7%	309
Cefalosporine de generația a II-a	171	55.3%	138	44,7%	309
Eritromicină	165	53.4%	144	46,6%	309
Penicilină	162	52.4%	147	47,6%	309
Tetraciclină	135	43.7%	174	56,3%	309
Levofloxacină	129	41.7%	180	58,3%	309
Oxacilină	126	40.8%	183	59,2%	309
Cotrimoxazol	120	38.8%	189	61,2%	309
Tobramicină	105	34.0%	204	66,0%	309
Cloramfenicol	93	30.1%	216	69,9%	309
Fosfomicină	90	29.1%	219	70,9%	309
Rifampicină	84	27.2%	225	72,8%	309
Claritromicină	78	25.2%	231	74,8%	309
Ampicilină	75	24.3%	234	75,7%	309
Linezolid	75	24.3%	234	75,7%	309
Ofloxacină	69	22.3%	240	77,7%	309
Vancomicină	69	22.3%	240	77,7%	309
Ceftriaxonă	66	21.4%	243	78,6%	309
Moxifloxacină	66	21.4%	243	78,6%	309
Amikacină	51	16.5%	258	83,5%	309
Doxiciclină	51	16.5%	258	83,5%	309
Ceftazidim	48	15.5%	261	84,5%	309
Netilmicină	48	15.5%	261	84,5%	309
Meropenem	45	14.6%	264	85,4%	309
Cefaclor	39	12.6%	270	87,4%	309
Cefepime	36	11.7%	273	88,3%	309
Azitromicină	33	10.7%	276	89,3%	309
Acid fusidic	33	10.7%	276	89,3%	309
Imipenem	33	10.7%	276	89,3%	309
Tazobactam	33	10.7%	276	89,3%	309
Cefoperazonă	24	7.8%	285	92,2%	309
Kanamicină	21	6.8%	288	93,2%	309
Cefaclor	18	5.8%	291	94,2%	309
Tigeciclină	18	5.8%	291	94,2%	309

## 6.4. DISCUȚII

Un prim aspect ce ar trebui discutat este legat de absența *Haemophilus influenzae* și a *Streptococcus pneumoniae* în probele analizate pe parcursul celor 5 ani studiați (2014-2018). Ambele bacterii se regăsesc în studiul ARMOR, așadar nu am putut face o comparație referitoare la acești germeni. De asemenea, stafilococii coagulazo-negativi au fost tratați ca un grup unic, neexistând subîmpărțirea în MR CoNS și MS CoNS, așa cum apare în studiul ARMOR, ceea ce a determinat ca analiza statistică să nu fie făcute pe subgrupe, ci pe lotul total de izolate de stafilococi coagulazo-negativi.

Șase culturi au fost pozitive pentru streptococ, însă speciile din care acestea fac parte nu au fost menționată în rezultatele de laborator.

Pe parcursul celor 5 ani s-au identificat doar 3 izolate de *Pseudomonas aeruginosa*, ceea ce a împiedicat efectuarea comparației referitoare la acest germeni.

O diferență notabilă între ratele de rezistență la antibiotice ale MRSA între studiul nostru și ARMOR se referă la Ciprofloxacină (33.3% vs 76.1%) și la Ofloxacină (0% vs 75.9%). Aceeași diferență semnificativă a rezistenței la Ciprofloxacină și Ofloxacină o regăsim și pentru MSSA (4.4% vs 13.3%, respectiv 25% vs 13.9%). Același lucru se poate spune însă despre Staf CoNS, situații în care procentele se inversează (27.3% vs 14.4%). Așadar, se pare că *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) are o rată mai mică de rezistență la Ciprofloxacină în studiul RAGS 2 (efectuat pe pacienți de la nivelul unui centru privat din București) comparativ cu rata de rezistență raportată pe teritoriul Statelor Unite ale Americii în studiul ARMOR.

De asemenea, la nivelul acestui centru din București procentele de rezistență la Cloramfenicol sunt foarte variabile față de cele înregistrate în studiul ARMOR pentru toată gama de stafilococi analizată, atât coagulazo-pozitivi (MRSA/MSSA), cât și coagulazo-negativi (Staf CoN).

În cazul stafilococilor coagulazo-pozitivi (MRSA/MSSA), studiul nostru a obținut rate ușor mai mari de rezistență față de studiul ARMOR și în cazul Tobramicinei (50% vs 40.6% pentru MRSA, respectiv 4.3% vs 4% pentru MSSA).

## 6.5. CONCLUZII

1. Vârsta medie a pacienților din lotul studiat a fost 67.97 ani, pacienții având vârste cuprinse între 21 și 98 ani.
2. Distribuția pe sexe a lotului total de studiu: 38.7% - bărbați și 61.3% femei

3. Din punct de vedere al distribuției pe sexe a lotului de studiu de pacienți cu secreții conjunctivale depistate pozitive, acestea au fost reprezentate în mod aproape egal: 153 bărbați și 156 femei (50.48% - bărbați și 49.5% femei).
4. Cel mai frecvent secrețiile conjunctivale pozitive au fost depistate în intervalul de vârstă 60-80 de ani.
5. În culturile analizate, MSSA a fost izolat de 186 ori (60.2%), MRSA de 9 ori (2.9%), stafilococi coagulazo-negativi de 54 ori (17.5%), *Pseudomonas aeruginosa* de 3 ori (0.1%). Toate celelalte bacterii rămase au fost izolate fiecare într-un procent mai mic de 5% și nu prezintă interes pentru studiul curent.
6. Rezistența *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) are un comportament diferit: ambele înregistrează în studiul RAGS 2 rezistență mai mică la Ciprofloxacină și mai mare la Tobramicină comparativ cu ARMOR. La Ofloxacină MRSA are rezistență semnificativ mai mică decât în ARMOR, dar pentru MSSA diferența nu este semnificativă statistic. Pentru alte chinolone de generație superioară nu se poate trage o concluzie privind rezistența/sensibilitatea deoarece au fost insuficient testate.
7. La Cloramfenicol pentru MRSA rezistența nu a fost testată, în timp ce MSSA are o rezistență semnificativ mai mare față de cea raportată în ARMOR.
8. În privința rezistenței stafilococilor coagulazo-negativi (Staf CoNS) nu putem emite o concluzie despre rezistența la Cloramfenicol, dar este semnificativ mai mică la Ofloxacină față de ARMOR. Nu prezintă diferență de rezistență la Ciprofloxacină și Tobramicină; aceeași situație este și pentru Levofloxacină și Moxifloxacină.
9. Pentru *Pseudomonas aeruginosa* nu se poate trage o concluzie privind rezistența/sensibilitatea deoarece a fost insuficient identificată și testată.
10. Rezistența MRSA, MSSA, stafilococilor coagulazo-negativi (Staf CoN) la **Cloramfenicol** este aproape nulă în studiul ARMOR și e prezentă în procent important pentru MSSA în RAGS 2.
11. Rezistența MRSA și MSSA la **Tobramicină** obținută în studiul RAGS 2 este semnificativ statistic mai mare față de cea înregistrată în studiul ARMOR, în timp ce cea a stafilococilor coagulazo-negativi (Staf CoN) este mai mică.
12. Rezistența MRSA, MSSA și stafilococilor coagulazo-negativi (Staf CoN) la **Ciprofloxacină** obținută în studiul RAGS 2 este nesemnificativ statistic mai mare față de cea înregistrată în studiul ARMOR.
13. Rezistența *Pseudomonas aeruginosa* la **Ciprofloxacină** obținută în studiul nostru față de cea înregistrată în studiul ARMOR nu a fost validată.



## CAPITOLUL 7

### STUDIUL III - STUDIUL RAGS 1 versus STUDIUL RAGS 2

Plecând de la ipoteza că există diferențe semnificative nu doar inter-continentale, interstatale și inter-regionale (la nivelul diferitelor zone ale unei țări), dar chiar și între diferitele zone ale unui oraș, am încercat să facem comparația statistică între loturile de pacienți incluși în studiul RAGS 1 și cei incluși în studiul RAGS 2. În esență această comparație se face între două modele de practică oftalmologică (de spital vs. privată), două modele diferite de adresabilitate a pacienților (urgențe+cronici vs. predominant cronici), ambele sedii putând fi încadrate în zona centrală a Bucureștiului, în sectoare diferite, dar cu adresabilitate complexă din București și zonele limitrofe, dar nu numai.

Au fost analizate comparativ cele 851 de probe pozitive provenind din studiul RAGS 1 cu cele 309 de probe pozitive provenind din studiul RAGS 2.

#### 7.6. CONCLUZII

1. Vârsta medie a pacienților din lotul RAGS 1 a fost 61.47 ani, în timp ce vârsta medie a pacienților din lotul RAGS 2 a fost 67.97 ani.
2. În studiul RAGS 1 pacienții au avut vârste cuprinse între 1 și 93 ani, iar în studiul RAGS 2 pacienții având vârste cuprinse între 21 și 98 ani.
3. În studiul RAGS 1, din punct de vedere al distribuției pe sexe, acestea au fost reprezentate în mod aproape egal - 50.48% bărbați și 49.5% femei, iar în studiul RAGS 2 distribuția pe sexe a fost 50.23% bărbați și 49.77% femei.
4. Cel mai frecvent secrețiile conjunctivale pozitive au fost depistate în intervalul de vârstă 60-80 de ani în ambele studii.
5. În studiul RAGS 1: MRSA a fost izolat de 180 ori (21.2%), MSSA de 348 ori (40.9%), stafilococii coagulazo-negativi (MR CoNS de 93 ori și MS CoNS de 121 ori) de 214 ori (25.14%) și Pseudomonas aeruginosa de 45 ori (5.3%). În studiul RAGS 2: MRSA a fost izolat de 9 ori (2.9%), MSSA a fost izolat de 186 ori (60.2%), stafilococii coagulazo-negativi de 54 ori (17.5%) și Pseudomonas aeruginosa de 3 ori (0.1%).
6. Toate celelalte bacterii au fost izolate fiecare într-un procent mai mic de 5% și nu au prezentat interes pentru studiul curent.

7. Ipoteza nulă  $H_0$  de la care s-a pornit a fost că rezistența/sensibilitatea generală la antibiotice în studiul RAGS 1 este asemănătoare cu de cea depistată în populația de pacienți din studiul RAGS 2. Între cele 2 cohorte studiate s-au demonstrat **diferențe semnificative statistic** la Ciprofloxacină, Cloramfenicol, Gentamicină și Tobramicină, posibil mai mari în RAGS 1 față de RAGS 2. Această ipoteză s-a adeverit pentru Kanamicină ( $p=0.301$ ).
8. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența MRSA la ciprofloxacină, cloramfenicol, gentamicină, kanamicină și tobramicină, sugerând despre comportamentul MRSA că este același pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceleiași zone geografice mai restrânse.
9. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența MSSA la gentamicină, kanamicină și tobramicină, dar există la ciprofloxacină și coramfenicol, sugerând despre comportamente ușor diferite ale MSSA pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceluiași areal.
10. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența Staf CoNS la gentamicină, kanamicină și tobramicină, dar există la ciprofloxacină și coramfenicol, sugerând despre comportamente ușor diferite ale Staf CoNS pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceluiași areal.
11. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența *Pseudomonas aeruginosa* la ciprofloxacină și gentamicină. Această ipoteză nu a putut fi validată pentru Cloramfenicol. Toate acestea conjugă spre ipoteza că *Pseudomonas aeruginosa* nu are caractere foarte diferite de la o subzonă la alta.

## CAPITOLUL 8

### CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

#### 8.1. CONCLUZII

Studiile s-au desfășurat pe o perioadă de 5 ani (2014-2018), în paralel și au înrolat în total 3514 pacienți.

În urma analizei atente a loturilor de studiu am constatat următoarele:

1. În studiul RAGS 1 am înrolat 1591 de pacienți, din care 851 au fost pozitivi (53.48%).
2. În studiul RAGS 2 am înrolat 1923 de pacienți, din care 309 au fost pozitivi (16.06%).
3. *Diferența de procente de pacienți pozitivi la însămânțarea secrețiilor conjunctivale aș pune-o pe seama faptului că în spital se prezintă cazuri mai severe, în timp ce în practica privată predomină cazurile de necesită o intervenție chirurgicală programată, pacienții fiind asimptomatici, dar supuși unui screening preoperator.*
4. Vârsta medie a pacienților din lotul RAGS 1 a fost 61.47 ani, în timp ce vârsta medie a pacienților din lotul RAGS 2 a fost 67.97 ani.
5. În studiul RAGS 1 pacienții au avut vârste cuprinse între 1 și 93 ani, iar în studiul RAGS 2 pacienții având vârste cuprinse între 21 și 98 ani.
6. *Vârsta medie a pacienților din cele 2 studii a fost asemănătoare, dar plaja de pacienți care s-a prezentat pentru consult a fost ușor diferită, către spital adresându-se și nou născuți, iar către practica privată și pacienți din sfârșitul decadei 9.*
7. Din punctul de vedere al distribuției pe sexe, atât în studiul RAGS 1, cât și în studiul RAGS 2, acestea au fost reprezentate 1:1, adică 50.48% bărbați vs 49.5% femei în RAGS 1 și 50.23% bărbați vs 49.77% femei în RAGS 2. Ne referim doar la pacienții ale căror probe recoltate din secrețiile conjunctivale au ieșit pozitive.
8. *Nu există diferențe, în sensul afectării cu precădere a unui sex, în loturile de pacienți depistați pozitivi la însămânțarea secrețiilor lor conjunctivale în niciunul din cele 2 studii RAGS.*
9. Cel mai frecvent secrețiile conjunctivale pozitive au fost depistate în intervalul de vârstă 60-80 de ani în ambele studii.
10. *Grupa de vârstă cu cele mai multe secreții conjunctivale pozitive este grupa vârstnicilor, unde se întâlnește atât patologie cronică, dar și patologie infecțioasă acută și cronică/cronică acutizată.*

12. În studiul RAGS 1: MRSA a fost izolat de 180 ori (21.2%), MSSA de 348 ori (40.9%), stafilococii coagulazo-negativi (MR CoNS de 93 ori și MS CoNS de 121 ori) de 214 ori (25.14%) și Pseudomonas aeruginosa de 45 ori (5.3%). În studiul RAGS 2: MRSA a fost izolat de 9 ori (2.9%), MSSA a fost izolat de 186 ori (60.2%), stafilococii coagulazo-negativi de 54 ori (17.5%) și Pseudomonas aeruginosa de 3 ori (0.1%). Toate celelalte bacterii au fost izolate fiecare într-un procent mai mic de 5% și nu au prezentat interes pentru studiul curent.
11. *Atât în studiul RAGS 1 cât și în studiul RAGS 2 au predominat MSSA în procent de 40.9%, respectiv 60.2%, următorul germen identificat ca frecvență fiind Staf CoN: 25.14%, respectiv 17.5%. Există diferențe mari în frecvența de identificare a MRSA și Pseudomonas aeruginosa.*
12. *Atât în studiul RAGS 1 cât și în studiul RAGS 2 au predominat, în grupele de vârstă 60-70 de ani și 70-80 de ani dintre tulpinile identificate cele mai numeroase au fost MSSA și Staf CoN.*
13. *Între cele 2 cohorte studiate s-au demonstrat **diferențe semnificative statistic în rezistența/sensibilitatea generală a germeilor la Ciprofloxacină, Cloramfenicol, Gentamicină și Tobramicină**, posibil mai mari în RAGS 1 față de RAGS 2.*
14. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența MRSA la ciprofloxacină, cloramfenicol, gentamicină, kanamicină și tobramicină, sugerând despre comportamentul MRSA că este același pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceleiași zone geografice mai restrânse.
15. *S-au identificat **diferențe semnificative statistic** între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește **rezistența MSSA la ciprofloxacină și coramfenicol**, sugerând despre comportamente ușor diferite ale MSSA pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceleiași zone.*
16. *S-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește **rezistența Staf CoNS la ciprofloxacină și coramfenicol**, sugerând același comportament al Staf CoNS pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceluiași areal ca și al MSSA.*
17. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic între cele 2 cohorte de pacienți din studiile RAGS 1 și RAGS 2 în ceea ce privește rezistența Pseudomonas aeruginosa la ciprofloxacină și gentamicină, diferența de rezistență la Cloramfenicol rămâne

nevalidată. Toate acestea conjugă spre ipoteza că *Pseudomonas aeruginosa* nu are caractere foarte diferite de la o subzonă la alta.

**18. Ca o concluzie mai generală legată de diferențele de sensibilitate/rezistență a germenilor între suprafețe teritoriale învecinate, în urma analizei datelor rezultate din studiile RAGS 1 și RAGS 2 reiese că *germenii care prezintă rezistență multiplă, de cele mai multe ori germeni asociați asistenței medicale, au un comportament uniform pe zone mai largi (ex. MRSA și Pseudomonas aeruginosa), în timp ce germenii care încă prezintă sensibilitate mare la antibiotice (ex. MSSA și stafilococii coagulazonegativi) au un comportament ușor diferit din punctul de vedere al sensibilității/rezistenței la antibiotice.***

## 8.2. CONTRIBUȚII PERSONALE

Sir Alexander Fleming, laureatul Premiului Nobel pentru Medicină (1945) pentru descoperirea penicilinei, a dat la scurt timp după ceremonie un interviu în care a declarat: „Persoana necugetată care se joacă cu tratamentul cu penicilină este responsabilă din punct de vedere moral pentru moartea pacientului cu infecție cu germen rezistent la penicilină”

Ce importanță au cele două studii și ce semnificație au datele colectate și analizate?

Din ceea ce se cunoaște până la acest moment sunt **singurele studii din România** în care s-au colectat date din două centre diferite de practică oftalmologică, pe o perioadă îndelungată - 5 ani (2014-2018) și care a înrolat un total de 3514 pacienți (1591 în studiul RAGS 1 și 1923 în studiul RAGS 2. S-au mai raportat puține studii de aceeași amploare în (ex. SUA și Italia, care sunt revizuite periodic pentru stabilirea trendului rezistenței.

Din analiza celor 2 studii s-au desprins câteva concluzii importante, care merită aprofundate în viitor:

- cel mai frecvent germen identificat în ambele studii a fost MSSA, urmat de stafilococii coagulazonegativi. MRSA și *Pseudomonas aeruginosa*, care sunt asociați de cele mai multe ori îngrijirilor medicale, sunt germeni mai rezistenți și au fost depistați în procente mici în ambele studii.
- din punct de vedere al rezistenței/sensibilității la ciprofloxacină și coramfenicol, MSSA prezintă comportamente ușor diferite pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceleiași zone.

- din punct de vedere al rezistenței/sensibilității la ciprofloxacină și coramfenicol, stafilococii coagulazo-negativi se comportă unitar pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceluiași areal.
- nu s-au identificat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește rezistența MRSA la ciprofloxacină, cloramfenicol, gentamicină, kanamicină și tobramicină, sugerând despre rezistența/sensibilitatea MRSA că este același pe suprafețe teritoriale mai largi aparținând aceleiași zone geografice mai restrânse.
- *Pseudomonas aeruginosa* nu are caractere foarte diferite de la o subzonă la alta în privința rezistenței/sensibilității la ciprofloxacină, gentamicină și Cloramfenicol.
- ca o concluzie mai generală legată de diferențele de sensibilitate/rezistență a germeilor între suprafețe teritoriale învecinate, în urma analizei datelor rezultate din studiile RAGS 1 și RAGS 2 reiese că **germenii care prezintă rezistență multiplă, de cele mai multe ori germeni asociați asistenței medicale, au un comportament uniform pe zone mai largi (ex. MRSA și *Pseudomonas aeruginosa*), în timp ce germenii care încă prezintă sensibilitate mare la antibiotice (ex. MSSA și stafilococii coagulazo-negativi) au un comportament ușor diferit din punctul de vedere al sensibilității/rezistenței la antibiotice**

Acest studiu doctoral ridică și o serie de probleme, întâlnite frecvent și care își au răsunet important în practica oftalmologică:

- prima problemă identificată este legată de lipsa de uniformitate în evaluarea probelor recoltate. Nu facem referire la lipsa de standardizare la nivel general de laboratoare, dar am sesizat inclusiv lipsa de uniformitate în examinarea probelor în cadrul aceluiași laborator. De aici derivă faptul că unii germeni au fost testați de doar câteva ori la unele antibiotice și consecutiv imposibilitatea introducerii unora dintre rezultatele de laborator în analiza statistică.
- a doua problemă este legată direct de cea anterioară și încercă să pună sub lupă, inclusiv din considerente economice, faptul că testarea probelor recoltate se face la antibiotice de ultimă generație și care nu ar avea nicio justificare să fie folosite într-o patologie oculară de tip conjunctivită bacteriană acută sau cronică. De aici derivă nevoia colaborării și a unui dialog strâns cu personalul medical din laboratorul de bacteriologie pentru a înțelege nevoile și cerințele oftalmologului raportate la severitatea cazului de la care s-au recoltat probe. **Antibiograma ar trebui să se facă diferențiat**; spre exemplu dacă este vorba de o conjunctivită acută care necesită exclusiv tratament topic, o keratită care ar putea beneficia de tratament sistemic asociat celui topic sau de o endoftalmită endogenă cu punct de plecare hepatic, testarea ar trebui să se facă ținând cont de gravitatea cazului și de opțiunile terapeutice.

Acest lucru ar aduce beneficii și în tratarea pacientului, dar și în economia de resurse a laboratorului.

- a treia problemă majoră este **indisponibilitatea sub formă de tratament topic a majorității antibioticelor** la care germeii se identifică sensibili sau intermediar sensibili. De cele mai multe ori oftalmologii sunt nevoiți să recurgă pentru tratament la soluții extemporanee de antibiotice , cu toate inconvenientele acestora (tolerabilitate, stabilitate etc.).

- a patra problemă, deloc de neglijat, este legată de faptul că ghidurile de antibioterapie, chiar dacă sunt elaborate zonal (ex. ghidul american, ghidul european etc.) dau **direcții de combatere a infecțiilor în administrare sistemică**, orală sau intravenoasă, cu dozaj bine stabilit, dar calea cea mai folosită în oftalmologie este cea topică, iar în acest sens nu există nicio mențiune sau specificație din punct de vedere al concentrațiilor soluțiilor de antibiotice.

Însuși Fleming, descoperitorul penicilinei, a prezis nu numai cât de utile vor fi medicamentele antibacteriene, ci și cât de periculoasă ar putea fi o lume fără ele.

București, 2022

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Albrich WC, Harbarth S. P1310 Healthcare workers - Source, vector or victim of MRSA? *Int J Antimicrob Agents*. 2007. 8(5):289-301. doi: 10.1016/S1473-3099(08)70097-5.
- Armstrong RA. The microbiology of the eye. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2000. 20(6):429-41
- Asbell PA, Sanfilippo CM, Pillar CM, DeCory HH, Sahm DF, Morris TW. Antibiotic resistance among ocular pathogens in the United States five-year results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR) surveillance study. *JAMA Ophthalmol*. 2015. 133(12):1445-54
- Asbell PA, Colby KA, Deng S, et al. Ocular TRUST: Nationwide Antimicrobial Susceptibility Patterns in Ocular Isolates. *Am J Ophthalmol*. 2008. 145(6):951-958. doi: 10.1016/j.ajo.2008.01.025. Epub 2008 Mar 28.
- Asbell PA, Sanfilippo CM, Sahm DF, DeCory HH. Trends in Antibiotic Resistance Among Ocular Microorganisms in the United States From 2009 to 2018. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(5):439-450. doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.0155
- Azari AA, Barney NP. Conjunctivitis: A systematic review of diagnosis and treatment. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2013. 310(16):1721-9. doi: 10.1001/jama.2013.280318.
- Baim AD, Movahedan A, Farooq AV, Skondra D. The microbiome and ophthalmic disease. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2019 Apr;244(6):419-429. doi: 10.1177/1535370218813616. Epub 2018 Nov 21. PMID: 30463439
- Bertino JS. Impact of antibiotic resistance in the management of ocular infections: The role of current and future antibiotics. *Clin Ophthalmol*. 2009;3(1):507-521.
- Brown CA. Penicillin In Ophthalmology: The bacteriological, experimental, and clinical evidence of its value, including a personal series of 125 clinical cases. *Br J Ophthalmol*. 1946;30(3):146-167.
- CARMIAAM – 2018. Consumul de antibiotic, rezistența microbiană și Infecții asociate Asistenței Medicale în România - 2018
- Capriotti JA, Pelletier JS, Shah M, Caivano DM, Ritterband DC. Normal ocular flora in healthy eyes from a rural population in Sierra Leone. *Int Ophthalmol*. 2009. 29(2):81-4. doi: 10.1007/s10792-008-9196-4. Epub 2008 Feb 23.
- Cassini A, Hogberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted lifeyears caused by infections with antibiotic-



- resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019 Jan;19(1):56-66.
- CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. *Current*. 2013.
- Chu DTW, Plattner JJ, Katz L. New directions in antibacterial research. *J Med Chem*. 1996. 39(20):3853-74. doi: 10.1021/jm960294s.
- Ciulla TA, Starr MB, Masket S. Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: An evidence-based update. *Ophthalmology*. 2002. 109(1):13-24. doi: 10.1016/s0161-6420(01)00899-5.
- Czaplewski L, Bax R, Clokie M, et al. Alternatives to antibiotics-a pipeline portfolio review. *Lancet Infect Dis*. 2016. 16(2):239-51. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00466-1.Epub 2016 Jan 13.
- Dar OA, Hasan R, Schlundt J, et al. Exploring the evidence base for national and regional policy interventions to combat resistance. *Lancet*. 2016. 387(10015):285-95. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00520-6.Epub 2015 Nov 18.
- Dave SB, Toma HS, Kim SJ. Changes in ocular flora in eyes exposed to ophthalmic antibiotics. *Ophthalmology*. 2013. 120(5):937-41. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.11.005. Epub 2013 Feb 13.
- Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*. 1994;264(5157):375-382. 1994. DOI: 10.1126/science.8153624
- Davies J. Bacteria on the rampage. *Nature*. 1996. doi.org/10.1038/383219a0
- De Kaspar HM, Kreidl KO, Singh K, Ta CN. Comparison of preoperative conjunctival bacterial flora in patients undergoing glaucoma or cataract surgery. *J Glaucoma*. 2004. 13(6):507-9. doi: 10.1097/01.ijg.0000137872.19942.cf.PMID: 15534478
- Demerec M. Origin of Bacterial Resistance to Antibiotics. *J Bacteriol*. 1948. 56(1):63-74. doi: 10.1128/jb.56.1.63-74.1948.
- Demirjian A, Sanchez G V., Finkelstein JA, et al. CDC grand rounds: Getting smart about antibiotics. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2015. 64(32):871-3.doi: 10.15585/mmwr.mm6432a3
- Dossarps D, Bron AM, Koehrer P, et al. Endophthalmitis after intravitreal injections: Incidence, presentation, management, and visual outcome. *Am J Ophthalmol*. 2015. 160(1):17-25.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2015.04.013.Epub 2015 Apr 16.
- Durand ML. ESCRS Guidelines for Prevention and Treatment of Endophthalmitis Following Cataract Surgery. *Clin Microbiol Infect*. 2013. 19(3):227-34. doi: 10.1111/1469-0691.12118.

- Egrilmez S, Yildirim-Theveny Ş. Treatment-Resistant Bacterial Keratitis: Challenges and Solutions. *Clin Ophthalmol*. 2020 Jan 29;14:287-297. doi: 10.2147/OPTH.S181997. eCollection 2020.PMID: 32099313
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. Stockholm: ECDC; 2018. Available from: <http://atlas.ecdc.europa.eu>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. Stockholm: ECDC; 2019. ESAC-Net surveillance data November 2019
- ESAC-Net Interactive Database. <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial-consumption/esac-net-database/Pages/database.aspx>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2019.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Exploring opportunities for support in healthcare-associated infections – Romania, 4–7 July 2016. Stockholm: ECDC; 2017.
- European Commission. A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR). Brussels: EC; 2017.  
[https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/amr\\_action\\_plan\\_2017\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/amr_action_plan_2017_en.pdf)
- ECDC Mission Report. ECDC country visit to Romania to discuss antimicrobial resistance issues, 6-10 March 2017. Stockholm: ECDC; June 2018.
- Foster A. Vision 2020: The cataract challenge. *J Community Eye Heal*. 2000. 13(34):17-9.
- Gentile RC, Shukla S, Shah M, et al. Microbiological spectrum and antibiotic sensitivity in endophthalmitis: A 25-year review. *Ophthalmology*. 2014. 121(8):1634-42. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.02.001. Epub 2014 Apr 2.
- Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: A 5-year review. *Ophthalmology*. 1999. 106(7):1313-8.
- Graham JE, Moore JE, Jiru X, et al. Ocular pathogen or commensal: A PCR-based study of surface bacterial flora in normal and dry eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2007. 48(12):5616-23. doi: 10.1167/iovs.07-0588.
- Green M, Apel A, Stapleton F. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea*. 2008. 27(1):22-7. doi: 10.1097/ICO.0b013e318156caf2.

- Grzybowski A, Brona P, Kim SJ. Microbial flora and resistance in ophthalmology: a review. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017;255(5):851-862. doi: 10.1007/s00417-017-3608-y
- Grzybowski A, Kuklo P, Pieczynski J, Beiko G. A review of preoperative manoeuvres for prophylaxis of endophthalmitis in intraocular surgery: Topical application of antibiotics, disinfectants, or both? *Curr Opin Ophthalmol*. 2016. 27(1):9-23. doi: 10.1097/ICU.0000000000000216.
- Haas W, Pillar CM, Torres M, Morris TW, Sahm DF. Monitoring antibiotic resistance in ocular microorganisms: Results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular microRorganisms (ARMOR) 2009 surveillance study. *Am J Ophthalmol*. 2011. 152(4):567-574.e3. doi: 10.1016/j.ajo.2011.03.010. Epub 2011 Jun 8.
- Hamad B. The antibiotics market. *Nat Rev Drug Discov*. 2010. 9(9):675-6. doi: 10.1038/nrd3267.
- Han DP, Vine AK, Blodi BA, et al. Microbiologic factors and visual outcome in the endophthalmitis vitrectomy study. *Am J Ophthalmol*. 1996. 122(6):830-46. doi: 10.1016/s0002-9394(14)70380-0.
- Han DP, Wisniewski SR, Wilson LA, et al. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the endophthalmitis vitrectomy study. *Am J Ophthalmol*. 1996. 122(1):1-17. doi: 10.1016/s0002-9394(14)71959-2.
- Hanet MS, Jamart J, Chaves AP. Fluoroquinolones or fortified antibiotics for treating bacterial keratitis: Systematic review and meta-analysis of comparative studies. *Can J Ophthalmol*. 2012. 47(6):493-9. doi: 10.1016/j.jcjo.2012.09.001.
- HariPriya A, Chang DF, Namburur S, Smita A, Ravindran RD. Efficacy of Intracameral Moxifloxacin Endophthalmitis Prophylaxis at Aravind Eye Hospital. *Ophthalmology*. 2016. 123(2):302-308. doi: 10.1016/j.optha.2015.09.037. Epub 2015 Oct 30.

## LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

### Carte/Capitol de carte:

1. Alina Popa-Cherecheanu, Ruxandra Pîrvulescu, Raluca Iancu, Sînziana Istrate, **M Popa-Cherecheanu**, DG Deleanu. Rezistența la antibiotice a florei conjunctivale – O ecuație cu mai multe necunoscute și fără soluție? Oftalmologia Clinică – vol. IV, pag. 265-281, 2021. Editura Pim (acreditată CNCSIS - 66/2010). ISBN 978-606-13-6320-9

### Articole publicate în reviste de specialitate:

1. Bacterial resistance in ophthalmology – resistance profile, influencing factors and prevention methods. A review. **Matei Popa-Cherecheanu**, Alina Popa-Cherecheanu, Dan George Deleanu, Mihai Ghiță. Modern Medicine. 2021, Vol. 28, No. 2. ISSN-online 2360-2473. [doi.org/10.31689/rmm.2021.28.2.127](https://doi.org/10.31689/rmm.2021.28.2.127)

2. Pilot study on antibiotic resistance of conjunctival bacteria - RAGS study. **Popa-Cherecheanu M**, Ionescu D, Grigore R, Munteanu GS, Simion-Antonie CB, Bejenaru PL, Berteșteanu ȘV, Ionescu TP, Deleanu DG, Popa-Cherecheanu A. Medicine in Evolution. Volume XXVII, Nr. 2, 2021, Timișoara, Romania. ISSN 2065-376X

3. Laboratory results on investigations of laser beams interactions with chlorpromazine to overpass multiple drug resistance acquired by bacteria. RA Pîrvulescu, AR Sterian, ML Pascu, **M Popa Cherecheanu**, MO Romanitan. UPB Sci. Bull, series A, vol 83, Issue 2, 2021. [https://www.scientificbulletin.upb.ro/rev\\_docs\\_arhiva/reze5d\\_312762.pdf](https://www.scientificbulletin.upb.ro/rev_docs_arhiva/reze5d_312762.pdf)