UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREŞTI
ŞCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ

Evaluarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze și aplicabilitatea măsurilor de prevenție și control a răspândirii acestora într-un spital cu profil nefrologic

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. POPA MIRCEA IOAN

Student doctorand:
CHELARU EDGAR-COSTIN

2026

Cuprinsul tezei

Lista cu lucrările științifice publicate..... 6
Lista cu abrevieri şi simboluri..... 10
Introducere..... 12
I. Partea generală..... 16
1. Rezistența la beta-lactamine a bacteriilor Gram-negative (BGN)..... 16
1.1. Mecanismele de rezistență la beta-lactamine ale BGN..... 16
1.1.1. Generalități..... 16
1.1.2. Penicilinazele..... 17
1.1.3. Beta-lactamazele cu spectru extins (BLSE)..... 17
1.1.4. Cefalosporinazele..... 17
1.1.5. Carbapenemazele..... 18
1.1.5.1. Carbapenemazele din clasa Ambler A..... 19
1.1.5.2. Carbapenemazele din clasa Ambler B..... 19
1.1.5.3. Carbapenemazele din clasa Ambler D..... 20
1.1.6. Alte mecanisme de rezistență la beta-lactamine ale BGN..... 21
1.1.6.1. Reducerea permeabilității..... 21
1.1.6.2. Exprimarea / supraexprimarea pompelor de eflux..... 21
1.1.6.3. Modificări ale structurii țintă..... 21
1.2. Importanța mecanismelor de rezistență la beta-lactamine ale BGN..... 22
1.3. Molecule importante pentru depistarea și confirmarea mecanismelor de rezistență la beta-lactamine..... 23
1.3.1. Carbapenemele..... 23
1.3.2. Cloxacilina..... 23
1.3.3. Vancomicina..... 24
1.3.4. Ionii metalici..... 24
1.3.5. Cefoxitinul..... 24
1.3.6. Temocilina..... 25
1.3.7. Penicilinele și penicilinele asociate cu inhibitori de beta-lactamaze..... 25
1.3.8. Cefalosporinele de generația a 3-a (ceftriaxonă, ceftazidim, cefotaxim, cefpodoxim), a 4-a (cefepim, cefpirom) și de nouă generație (cefiderocol)..... 25
1.3.9. Aztreonamul..... 25

1.3.10. Noi asocieri cefalosporină-inhibitor (ceftolozan-tazobactam, ceftazidim-avibactam) și asocierea aztreonam-avibactam..... 26
1.4. Testarea sensibilității la antibiotice..... 26
1.5. Metode de depistare a BGN rezistente la beta-lactamine și teste de confirmare a mecanismelor de rezistență..... 28
1.5.1. Metode de detectare a Enterobacterales rezistente la beta-lactamine..... 28
1.5.1.1. Metode de detectare a producerii de penicilinaze la Enterobacterales..... 28
1.5.1.2. Metode de detectare a producerii de BLSE la Enterobacterales..... 29
1.5.1.3. Metode de detectare a producerii de AmpC la Enterobacterales..... 35
1.5.1.4. Metode de detectare a producerii de carbapenemaze la Enterobacterales..... 38
1.5.1.5. Metode de detectare a impermeabilității la Enterobacterales..... 45
1.5.2. Metode de detectare a BGN nefermentative rezistenți la antibiotice..... 45
1.5.2.1. Metode de detectare a *Pseudomonas aeruginosa* producătoare de beta-lactamaze..... 45
1.5.2.2. Metode de detectare a *Acinetobacter bamannii* producătoare de beta-lactamaze..... 48
1.5.3. Metode de depistare și monitorizare a pacienților colonizați cu microorganisme multirezistente..... 49
2. Date privind rezistența la beta-lactamine în România..... 50
II. Contribuții personale..... 52
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale..... 52
4. Metodologia generală a cercetării..... 54
5. Caracterizarea tulpinilor bacteriene izolate într-un spital cu profil nefrologic și a mecanismelor ce duc la diminuarea sensibilității față de beta-lactamine..... 55
5.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiectivele specifice)..... 55
5.2. Materiale și metode..... 56
5.2.1. Selectarea și identificarea tulpinilor bacteriene..... 56
5.2.2. Testarea sensibilității la antibiotice..... 56
5.2.3. Testarea fenotipică a producerii de beta-lactamaze..... 59
5.2.4. Analiza datelor..... 61
5.3. Rezultate..... 61
5.3.1. Enterobacterales..... 65

5.3.1.1. Testarea sensibilității la antibiotice a tulpinilor de Enterobacterales..... 65
5.3.1.2. Mecanismele de rezistență la beta-lactamine ale Enterobacterales..... 67
5.3.2. Bacteriile Gram-negative nefermentative..... 76
5.3.2.1. Testarea sensibilității la antibiotice a BGN nefermentative..... 76
5.3.2.2. Mecanismele de rezistență la beta-lactamine ale BGN nefermentative..... 80
5.4. Discuții..... 83
5.4.1. Limitări..... 89
5.5. Concluzii (parțiale)..... 90
6. Dezvoltarea unui test fenotipic, util în identificarea prin inhibare a cefalosporinazelor, a mecanismelor mascate de cefalosporinaze și distingerea hiper-producerii acestor enzime de producerea de carbapenemaze..... 92
6.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiectivele specifice)..... 92
6.2. Materiale și metode..... 93
6.2.1. Prepararea mediilor..... 93
6.2.2. Testarea sensibilității la antibiotice..... 93
6.2.3. Tulpinile bacteriene testate..... 95
6.2.4. Analiza statistică..... 96
6.3. Rezultate..... 96
6.3.1. Stabilirea concentrației de oxacilină..... 96
6.3.2. Tulpinile producătoare de penicilinaze și BLSE..... 103
6.3.3. Tulpinile producătoare și hiper-producătoare de cefalosporinaze (CASE și HCASE)..... 105
6.3.4. Tulpinile producătoare de carbapenemaze..... 110
6.4. Discuții..... 112
6.5. Concluzii (parțiale)..... 115
7. Elaborarea unui mediu de cultură selectiv și diferențial, cromogen, pentru izolarea și identificarea enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze..... 117
7.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiectivele specifice)..... 117
7.2. Materiale și metode..... 120
7.3. Rezultate..... 122
7.4. Discuții..... 129

7.5. Concluzii (parțiale)..... 131
Concluzii și contribuții personale..... 133
1. Concluzii..... 133
2. Contribuții proprii..... 136
Bibliografie..... 139
ANEXE..... 166
ANEXA 1..... 166
ANEXA 2..... 177
ANEXA 3..... 180
ANEXA 4..... 199

Introducere

Rezistența la antibiotice și chimioterapice antimicrobiene reprezintă o problemă de sănătate publică la nivel mondial, fiind asociată cu niveluri ridicate de morbiditate și mortalitate, cu incidență în creștere, care ar putea fi prevenite prin îmbunătățirea calității serviciilor de acordare a asistenței medicale, a accesului la medicamente antimicrobiene, precum și prin consumul judicios al acestora [1–3]. Infecțiile bacteriene sunt comune și foarte diverse, tratamentul cu medicamente antimicrobiene fiind frecvent necesar. În urma presiunii de selecție prin expunerea microorganismelor în mod inadecvat la substanțe antimicrobiene este favorizată apariția bacteriilor cu mecanisme de rezistență față de aceste substanțe. În lipsa respectării normelor de igienă și de prevenire a răspândirii acestora, pot apărea surse de microorganisme rezistente, care pot produce infecții severe, greu sau imposibil de tratat și pot amplifica riscurile asociate manevrelor medico-chirurgicale [2,4–7].

Beta-lactaminele sunt cele mai utilizate antibiotice în practica medicală, atât pentru efectul lor bactericid asupra unui număr semnificativ de bacterii, cât și datorită numărului redus de reacții adverse grave comparativ cu alte clase. Expunerea microorganismelor la acestea a avut însă ca efect dezvoltarea mecanismelor de rezistență, în special în rândul bacteriilor Gram-negative [8,9].

Colectarea, înregistrarea, analiza și raportarea datelor obținute în urma diagnosticului microbiologic pot sprijini eforturile de combatere a rezistenței la antibiotice. Monitorizarea și supravegherea în vederea depistării precoce a microorganismelor rezistente, atât la persoane colonizate, cât și în mediu, reprezintă mijloace utile în acest scop. Pacienții spitalizați în afara țării, cei transferați între unități de acordare a asistenței medicale, cât și cei imunosupresați sau în stare critică pot fi evaluați pentru portaj prin recoltarea de produse patologice reprezentative și însămânțarea acestora pe medii de cultură selective, special destinate *screeningului*. În plus, măsuri de igienă și măsuri care țintesc combaterea consumului irațional de antibiotice, inclusiv prin instruirea personalului medical, pot favoriza limitarea fenomenului de rezistență la antibiotice [7,10].

Problema microorganismelor rezistente la antibiotice a fost semnalată și în România. Deși există eforturi importante de combatere a acestui fenomen, datele raportate rămân încă limitate. Din acest motiv, eforturile de identificare, raportare și combatere a fenomenului trebuie continuate și susținute [11–15] .

I. Partea generală

1. Rezistența la beta-lactamine a bacteriilor Gram-negative

Multitudinea asocierilor dintre microorganisme și mecanismele de rezistență este în continuă dezvoltare [1]. Bacteriile Gram-negative (BGN), atât Enterobacterales, cât și specii nefermentative (precum *Pseudomonas* spp. sau *Acinetobacter* spp.), pot prezenta mecanisme de rezistență cromozomiale sau plasmidice, naturale sau dobândite, constitutive sau inductibile. Mutații ale genelor care codifică pentru structuri țintă sau diverse mecanisme adaptative, precum reducerea numărului de porine membranare, reducerea permeabilității, dezvoltarea unor pompe de eflux etc., pot avea ca efect apariția rezistenței la antibiotice. Mecanismele enzimatice sunt însă printre cele mai importante și răspândite pentru aceste microorganisme, iar unul dintre cele mai importante grupuri este reprezentat de beta-lactamaze. Beta-lactamazele sunt enzime care pot inactiva beta-lactaminele prin mecanism hidrolitic și includ penicilinazele, beta-lactamazele cu spectru extins (BLSE), cefalosporinazele (AmpC) și carbapenemazele. Genele care codifică sinteza acestora se găsesc frecvent pe elemente genetice mobile, precum plasmidele și transpozonii, care permit răspândirea rezistențelor atât pe cale verticală, cât și orizontală, între tulpini, specii și chiar genuri diferite. Beta-lactamazele sunt împărțite de clasificarea Ambler în patru grupuri, notate A, B, C și D, având multipli reprezentanți și spectre de acțiune variate. Carbapenemazele sunt incluse, în mod particular, în clasele A (serin-carbapenemaze, cele mai comune fiind tipurile KPC și IMP), B (metalo-beta-lactamaze, MBL, cele mai comune fiind NDM și VIM) și D (serin-carbapenemaze, cele mai comune fiind cele de tip OXA-48-*like*) [1,7,14–19].

Microorganismele ce prezintă mecanisme de rezistență sunt implicate atât în infecții ce pot fi severe și dificil de tratat, însă se pot identifica și ca portaj asimptomatic. Persoanele colonizate, purtătoare de microorganisme rezistente la antibiotice, prezintă risc de a dezvolta infecții cu aceste microorganisme în anumite condiții nefavorabile, precum și de a răspândi aceste microorganisme și mecanismele lor de rezistență în mediul spitalicesc și cel comunitar [7,14,15,20–23].

Un număr important de substanțe antibiotice beta-lactamice și non-beta-lactamice (ex. diverse peniciline și inhibitori, diverse cefalosporine și asocieri, carbapenemele, aztreonamul, vancomicina), precum și ioni metalici (ex. ionii de zinc) sunt importante pentru

diagnosticul de laborator al tulpinilor microbiene producătoare de beta-lactamaze (și implicit, de carbapenemaze). Identificarea microorganismelor producătoare de beta-lactamaze implică testarea sensibilității la antibiotice prin antibiograma difuzimetrică standardizată Kirby-Bauer și interpretarea acesteia, determinarea concentrațiilor minime inhibitorii prin metode manuale și/sau automate și detectarea genelor de rezistență prin metode moleculare [7,14,15,20–23].

Suplimentar, pentru detectarea specifică a prezenței diverselor beta-lactamaze se pot utiliza tehnici care evaluează interacțiunea *in vitro* între diverse substanțe antimicrobiene (ex. teste de sinergie), se poate evalua rezistența la anumite antibiotice „cheie", se poate efectua testarea pe medii cu inhibitori (ex. Mueller-Hinton cu cloxacilină). Mai mult, se pot efectua teste care urmăresc degradarea unei substanțe antimicrobiene, precum testele ce evaluează degradarea carbapenemilor fie colorimetric, prin modificarea pH (ex. *BlueCarba test*, Carba NP etc.), fie prin alte metode, precum tehnica CIM (*carbapenem inactivation method*) și derivatele, detectarea hidrolizei carbapenemilor sau detectarea directă a prezenței acestora cu MALDI-TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry*), tehnici imunocromatografice etc. [7,14,15,20,24–26].

2. Date privind rezistența la beta-lactamine în România

Așa cum a fost menționat, în România s-a semnalat faptul că există un nivel crescut de bacterii rezistente la antibiotice și chimioterapice, inclusiv producătoare de carbapenemaze (enzime cu importante implicații epidemiologice); există progrese în vederea combaterii acestui fenomen (ghiduri și proceduri ce au ca scop instruirea personalului medical, evitarea utilizării de primă intenție a antibioticelor restricționate, programe de tip *Antibiotic Stewardship*, *screening* în vederea depistării colonizărilor cu microorganisme multirezistente etc.), însă datele raportate la nivel național nu pot fi încă extrapolate în așa fel încât să aibă relevanță statistică robustă [7,11–15,20,27,28]. Din aceste motive, sunt necesare continuarea și sporirea efortului de identificare, raportare și combatere a acestui fenomen.

II. Contribuții personale

3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Scopul cercetării

Evaluarea tulpinilor bacteriene rezistente la beta-lactamine și a mecanismelor de rezistență prezente, identificarea unor măsuri de prevenție și control al răspândirii acestora și elaborarea unor teste fenotipice accesibile pentru identificarea prezenței microorganismelor rezistente la beta-lactamine și a mecanismelor de rezistență.

Obiectiv general

Caracterizarea tulpinilor bacteriene izolate într-un spital cu profil nefrologic și a mecanismelor ce duc la diminuarea sensibilității față de beta-lactamine (îndeosebi carbapenemi), identificarea unor măsuri de prevenire și control a răspândirii acestora, dezvoltarea unui test fenotipic util în identificarea prezenței cefalosporinazelor și distingerea hiper-producerii acestor enzime de producerea de carbapenemaze și elaborarea unui mediu de cultură pentru izolarea enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze, inclusiv prin evaluarea și monitorizarea în vederea depistării colonizărilor și contaminării.

Obiective specifice

1. Caracterizarea a 300-400 de tulpini bacteriene (Enterobacterales și bacterii Gram negative nefermentative, precum *Pseudomonas* spp. și *Acinetobacter* spp.) izolate pe parcursul a circa 2 ani în Spitalul Clinic de Nefrologie „Dr. Carol Davila” din București și definirea mecanismelor ce duc la diminuarea sensibilității la beta-lactamine, cu accent pe carbapenemi, utilizând teste validate și standardizate.

2. Elaborarea unui mediu de cultură pentru antibiograme, Mueller-Hinton cu infuzie de oxacilină (resurse accesibile în România), prin intermediul căruia se poate identifica producerea de cefalosporinaze (importanță majoră având cefalosporinazele cromozomiale de tip AmpC), se poate diferenția hiper-producerea acestor enzime de producerea de carbapenemaze (situații care se pot prezenta fenotipic similar pe antibiograma difuzimetrică) și se pot evidenția BLSE mascate, prin testarea a 100-150 tulpini de Enterobacterales bine caracterizate și compararea rezultatelor cu cele obținute pe agar Mueller-Hinton și agar Mueller-Hinton cu infuzie de cloxacilină.

3. Elaborarea unei rețete pentru un mediu de cultură selectiv-diferențial, ce utilizează o bază de agar cromogen suplimentată cu molecule cu efect antimicrobian (ertapenem,

vancomicină), efect inhibitor asupra cefalosporinazelor (oxacilină) și cu efect de potențare a metalo-beta-lactamazelor (sulfat de zinc), care favorizează izolarea microorganismelor rezistente la carbapenemi îndeosebi prin producere de carbapenemaze, inclusiv din probe recoltate în scopul depistării și monitorizării portajului și contaminării.

4. Identificarea unor măsuri utile pentru prevenția și controlul răspândirii microorganismelor rezistente la beta-lactamine, precum metode rapide și accesibile de depistare a prezenței acestor microorganisme în clinică și în laborator, programe pentru o mai bună colaborare interdisciplinară, prescrierea și consumul judicios de medicamente antimicrobiene și stabilirea unor măsuri clare și eficiente de igienă.

5. Redactarea și publicarea de lucrări științifice pe baza datelor obținute, incluzând cel puțin 3 articole (ca prim-autor, unic autor sau autor corespondent), dintre care cel puțin 1 articol într-o revistă cotată ISI (Clarivate Analytics) cu Factor de Impact (FI) ≥ 0,5 și 2 articole în reviste indexate cel puțin în PubMed.

4. Metodologia generală a cercetării

Metodologia a fost prezentată detaliat în cadrul fiecărui capitol din partea aferentă contribuțiilor personale, atât în ceea ce privește evaluarea tulpinilor producătoare de carbapenemaze din spitalul cu profil nefrologic colaborator, cât și studiile prin care s-a demonstrat potențialul de inhibitor de cefalosporinaze al oxacilinei și s-au dezvoltat cele două medii de cultură.

Pentru primul studiu au fost descrise tulpinile bacteriene izolate și caracterizate, protocoalele aplicate în vederea identificării microorganismelor și evaluării mecanismelor de rezistență asociate, metodele utilizate, testele statistice aplicate, programele utilizate pentru grafice și analiză statistică și altele. Tulpinile utilizate în studiu au fost conservate prin înghețare la -80 °C atât pentru evaluări ulterioare cât și pentru alte studii în cadrul cărora ar putea fi utilizate.

În studiul prin care s-a confirmat potențialul de inhibitor al oxacilinei și a fost dezvoltat mediul de cultură suplimentat cu oxacilină, a fost, de asemenea, descrisă colecția de tulpini selectată și utilizată. Au fost descrise și protocolul de lucru, molecula și metoda de referință utilizate pentru comparare și validarea tehnicii și a mediului de cultură, precum și modul prin care s-a efectuat analiza statistică.

Pentru studiul prin care a fost dezvoltat mediul de cultură pentru depistarea microorganismelor producătoare de carbapenemaze, care ar putea fi folosit inclusiv pentru produse patologice și probe de mediu, au fost descrise metodologia de lucru, rețeta mediului de cultură elaborat, testele aplicate în vederea evaluării statistice.

Niciunul dintre studiile efectuate nu a implicat subiecți umani, produse patologice sau animale de experiență, ci doar tulpini bacteriene izolate. Toate datele au fost pseudonimizate și colectate în concordanță cu deciziile Parlamentului și ale Consiliului European privind supravegherea epidemiologică și controlul bolilor transmisibile în Comunitatea Europeană (Regulamentul (UE) 2022/2370 și Regulamentul (UE) 2022/2371). Avizul comisiei de etică a fost solicitat și obținut de la Comisia de Etică a Cercetării Științifice a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București (Anexa 4).

Referințele bibliografice au fost gestionate cu ajutorul Zotero v.9.0.2.

5. Caracterizarea tulpinilor bacteriene izolate într-un spital cu profil nefrologic și a mecanismelor ce duc la diminuarea susceptibilității față de beta-lactamine

În contextul fenomenului rezistenței la antibiotice, identificarea și caracterizarea microorganismelor multirezistente sunt esențiale. Așa cum a fost menționat, un nivel crescut de microorganisme rezistente la antibiotice a fost raportat și în România, însă datele disponibile la nivel național sunt încă limitate. Prin acest studiu s-a urmărit evaluarea tulpinilor bacteriene Gram-negative (BGN) producătoare de beta-lactamaze izolate pe parcursul a doi ani (2022-2024) într-un spital de nefrologie din România.

Un total de 397 tulpini de bacterii Gram-negative izolate în perioada ianuarie 2022 - mai 2024 care au prezentat criterii pozitive pentru rezistență la antibiotice au fost evaluate. După izolare pe medii cromogene și identificare cu ajutorul MALDI-TOF MS, au fost efectuate, citite și interpretate antibiograme difuzimetrice standardizate extinse, urmând ghidurile EUCAST și CA-SFM, precum și alte ghiduri propuse și utilizate de Centrul național de referință pentru rezistență la antibiotice din Franța. Testarea a fost completată cu evaluare pe medii agar Mueller-Hinton suplimentat cu oxacilină sau cloxacilină. Tulpinile de Enterobacterales nu au fost evaluate pentru rezistență la aztreonam-avibactam, iar concentrațiile minime inhibitorii (CMI) pentru colistin și ceftazidim-avibactam nu au fost determinate. Pentru BGN nefermentative s-a determinat CMI la colistin. Pentru detectarea producerii de carbapenemaze s-au efectuat teste fenotipice standardizate pentru toate tulpinile: *BlueCarba Test* (BCT), CIM, mCIM, zCIM și rCIM. Un set de Enterobacterales, toate tulpinile de *Pseudomonas* spp. și toate tulpinile de *Acinetobacter baumannii* din studiu au fost evaluate pentru producere de carbapenemaze și prin teste imunocromatografice. Evaluarea statistică s-a efectuat utilizând Microsoft Office Excel v.16.0 și Excel Data Analysis ToolPak. Pentru sinteza datelor s-a efectuat statistică descriptivă, iar pentru a compara rezultatele testelor ce evaluează producerea de carbapenemaze s-a calculat acordul inter-evaluator Cohen kappa și acordul procentual pentru un caz specific.

Cele 397 de tulpini evaluate au inclus 335 (84,38%) Enterobacterales și 62 (15.62%) BGN nefermentative. Tulpinile au prezentat niveluri importante de rezistență la antibioticele testate. Dintre acestea, 188 (47,35%) au fost tulpini de *Klebsiella pneumoniae*; 139/188 (73,93%) au prezentat rezistență la carbapenemi și producere de carbapenemaze; 49/188 (26,06%) au fost identificate ca producătoare de două carbapenemaze; iar 45/188 (23,93%)

au prezentat rezistență la toate antibioticele testate. MALDI-TOF a identificat 28 de tulpini de *K. pneumoniae* producătoare de KPC. Testele imunocromatografice au identificat carbapenemaze de tip NDM, VIM, KPC și OXA-48-like la 48 dintre cele 56 Enterobacterales testate; 12/48 tulpini au prezentat două carbapenemaze. Excluzând unele rezultate neconcludente determinate de BCT, 129/335 tulpini de Enterobacterales au fost detectate ca producătoare de carbapenemaze prin toate cele 6 teste aplicate (antibiogramă, BCT, CIM, zCIM, mCIM, rCIM). Coeficienții Cohen kappa au indicat acord foarte înalt între rezultate (între 0,81 și 0,98). Pentru rezultatele obținute în cazul celor 56 de tulpini pentru care s-au efectuat și teste imunocromatografice, s-au obținut acorduri procentuale ridicate.

Între cele 62 BGN nefermentative, 33 au fost *Pseudomonas* spp., iar 20 *Acinetobacter baumannii*; o tulpină de *Pseudomonas* spp. a prezentat sensibilitate doar la colistin, iar 7 doar la cefiderocol; 4 tulpini de *A. baumannii* au prezentat sensibilitate doar la colistin, iar 3 doar la cefiderocol. Testele imunocromatografice au depistat prezența carbapenemazelor de tip VIM sau IMP la 13/33 *Pseudomonas* spp. și OXA-23 și/sau OXA-40/-58 la toate cele 20 de tulpini de *A. baumannii*. Coeficienții kappa au prezentat rezultate mai reduse pentru testele de detectare a producerii de carbapenemaze.

Au fost prezente rezultate fals-pozitive și fals-negative, cauzate atât de limite ale metodelor, cât și de tulpini cu enzime particulare, slab exprimate și/sau cu necesar crescut de zinc, mecanisme de rezistență non-enzimatice asociate și fenotipuri particulare. Au fost identificate tulpini de *K. pneumoniae* înalt rezistente cu fenotip rugos al culturii. Pentru date suplimentare, sunt necesare determinarea sensibilității la anumite antibiotice netestate și evaluarea moleculară. De asemenea, trebuie menționat că procesul de selecție nu permite raportarea unor date de incidență și prevalență în mod adecvat.

Au fost identificate atât tulpini bacteriene cu rezistență crescută la antibiotice, inclusiv prin producerea a două carbapenemaze, cât și tulpini bacteriene producătoare de carbapenemaze ce pot trece neobservate de tehnicile uzuale de supraveghere, dar care pot asocia infecții dificil de tratat și pot disemina mecanismele de rezistență către alte bacterii.

Continuarea caracterizării tulpinilor bacteriene rezistente, inclusiv prin metode moleculare, și continuarea colaborării cu spitalul în care au fost izolate tulpinile și extinderea acesteia și către alte spitale din țară ar putea favoriza colectarea de date și obținerea de rezultate cu relevanță statistică superioară [15].

6. Dezvoltarea unui test fenotipic, util în identificarea prin inhibare a cefalosporinazelor, a mecanismelor mascate de cefalosporinaze și distingerea hiper-producerii acestor enzime de producerea de carbapenemaze

Creșterea incidenței infecțiilor cu BGN producătoare de beta-lactamaze reprezintă, așa cum a fost menționat, o problemă importantă. AmpC sunt produse de multiple specii din ordinul Enterobacterales și pot degrada un număr semnificativ de beta-lactamine, inclusiv carbapenemi, atunci când se asociază cu modificări membranare. Detectarea și diferențierea mecanismelor de rezistență sunt esențiale pentru tratamentul adecvat și pentru implementarea măsurilor de prevenție și control a răspândirii tulpinilor rezistente.

Testarea sensibilității la antibiotice pe agar Mueller-Hinton (MHA) suplimentat cu cloxacilină (MHC) pentru inhibarea AmpC în vederea depistării și diferențierii de alte beta-lactamaze este o tehnică cunoscută. Cloxacilina nu este însă disponibilă în unele țări, inclusiv România. Prin acest studiu a fost evaluat potențialul oxacilinei de a fi utilizată ca alternativă la cloxacilină pentru inhibarea AmpC și fost elaborat mediul Mueller-Hinton suplimentat cu oxacilină (MHO) ca alternativă la MHC pentru Enterobacterales.

MHO suplimentat cu diverse concentrații de oxacilină a fost comparat cu MHA și MHC cu 250 mg/L de cloxacilină. Evaluarea s-a efectuat utilizând un set de 113 tulpini bacteriene din ordinul Enterobacterales bine caracterizate, producătoare de beta-lactamaze. MHO la o concentrație de 300 mg/L până la 350 mg/L a oferit rezultate similare cu MHC250. Unele tulpini, cu mecanisme de rezistență particulare și/sau cu sensibilitate crescută la antibiotice, au prezentat creștere slabă pe mediile cu inhibitori, creșteri nespecifice ale diametrelor sau creșteri ale diametrelor sub pragul de detecție. Concentrațiile de oxacilină pentru genurile *Pseudomonas* și *Acinetobacter* trebuie stabilite, cele de cloxacilină fiind diferite față de Enterobacterales.

Utilizarea MHO300 s-a dovedit eficientă în inhibarea cefalosporinazelor, permițând diferențierea tulpinilor hiper-producătoare de AmpC de cele producătoare de carbapenemaze. Mediul a permis demascarea mecanismelor ascunse de cefalosporinaze, precum BLSE. Oxacilina ar putea fi utilizată și în alte teste fenotipice de identificare a mecanismelor de rezistență, similar cloxacilinei, iar mediul de cultură suplimentat cu oxacilină are potențialul de a fi utilizat ca o variantă ieftină de identificare și inhibare *in vitro* a cefalosporinazelor [14].

7. Elaborarea unui mediu de cultură selectiv și diferențial, cromogen, pentru izolarea și identificarea enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze

Microorganismele rezistente la carbapenemi, prin producere de carbapenemaze, reprezintă o problemă nu doar prin infecțiile produse și diseminarea rapidă, ci și prin potențialul de a coloniza persoanele expuse. Persoanele colonizate prezintă risc de a dezvolta infecții cu aceste microorganisme și reprezintă surse de microorganisme multirezistente. Depistarea precoce a portajului este importantă pentru a aplica măsurile adecvate de decontaminare și prevenire. Prin acest studiu s-a urmărit elaborarea unei rețete pentru un mediu de cultură cromogen suplimentat cu antibiotice și adjuvanți ce poate permite izolarea Enterobacterales producătoare de carbapenemaze din produse patologice reprezentative utilizate pentru monitorizare și depistare (precum materii fecale, tampoane rectale etc.), indiferent de nivelul de contaminare, cu sensibilitate și specificitate înalte.

A fost elaborat un mediu de cultură cu bază cromogenă, suplimentat cu ertapenem, oxacilină, vancomicină și sulfat de zinc, respectând necesarul prestabilit prin criterii de depistare și de rezistență. Mediul de cultură elaborat a fost însămânțat cu suspensii bacteriene în concentrații variate. S-a utilizat o colecție de 253 Enterobacterales bine caracterizate, cu mecanisme de rezistență variate, inclusiv carbapenemaze slab exprimate, cu activitate hidrolizantă redusă.

Mediile de cultură au permis dezvoltarea Enterobacterales producătoare de carbapenemaze cu o sensibilitate înaltă (97,4 - 97,6%), chiar și din suspensiile cu concentrații scăzute. Tulpinile ce au determinat rezultate fals-negative au fost producătoare de carbapenemaze cu activitate enzimatică foarte redusă. Tulpinile care au produs rezultate fals-pozitive au fost neproducătoare de carbapenemaze, dar cu concentrații minime inhibitorii crescute la ertapenem foarte înalte. Aceste tulpini sunt tulpini de colecție rar întâlnite în practica medicală. Microorganismele rezistente la substanțele antimicrobiene infuzate în mediu ar putea prezenta, în continuare, creștere pe mediul elaborat.

Mediul elaborat permite izolarea cu succes a bacteriilor producătoare de carbapenemaze, inclusiv a celor cu rezistență de nivel scăzut. Baza cromogenă favorizează distingerea genurilor și speciilor. Mediul ar putea fi utilizat pentru depistarea portajului la pacienți, cât și pentru depistarea microorganismelor rezistente în probe de mediu [1,5,7,14–16,20,29–34].

Concluzii și contribuții personale

1. Concluzii

Au fost evaluate 397 de tulpini bacteriene Gram-negative și mecanismele lor de rezistență, îndeplinind obiectivul studiului. Au fost identificate nivele ridicate de rezistență la antibiotice și o variabilitate semnificativă a carbapenemazelor și asocierilor microorganism-carbapenemeaze, unele tulpini producând două carbapenemaze simultan.

Citirea interpretativă a antibiogramei difuzimetrice rămâne o metodă valoroasă și fiabilă pentru evaluarea sensibilității la antibiotice și detectarea mecanismelor de rezistență. Testele fenotipice pentru detectarea producerii de carbapenemaze prezintă sensibilitate și specificitate mai înalte în cazul Enterobacterales comparativ cu BGN nefermentative, însă toate prezintă limitări. Pentru diagnosticul fenotipic adecvat al BGN producătoare de carbapenemaze, evaluarea antibiogramei ar trebui făcută concomitent cu teste care evaluează producerea de carbapenemază. Anumite specii ar trebui evaluate cu un grad înalt de suspiciune pentru a nu omite tulpini producătoare de enzime slabe.

Evaluarea moleculară și testarea sensibilității la antibiotice suplimentare sunt necesare pentru o imagine completă asupra tulpinilor evaluate. Continuarea colaborării cu spitale pentru evaluarea tulpinilor rezistente și colectarea de date demografice va permite raportarea adecvată a unor date privind incidența, prevalența și evoluția în timp.

Potențialul de inhibitor de cefalosporinaze al oxacilinei, ca alternativă la cloxacilină, a fost demonstrat. Mediul MHO300 reprezintă o metodă eficientă de depistare a bacteriilor producătoare de AmpC, de diferențiere a acestora de cele cu alte mecanisme de rezistență și de demascare a BLSE. Obiectivul cercetării a fost, așadar, îndeplinit.

Posibilitatea de a produce local un mediu de cultură precum MHO 300 mg/L ar putea fi utilă pentru laboratoarele de microbiologie. Sunt urmărite stabilirea concentrației oxacilinei din MHO pentru detectarea prezenței AmpC la *Pseudomonas* spp. și *Acinetobacter* spp. și utilizarea oxacilinei ca alternativă la cloxacilină în alte teste.

A fost elaborat un mediu de cultură selectiv-diferențial pe bază de agar cromogen, ce permite izolarea cu succes a bacteriilor producătoare de carbapenemaze, inclusiv a celor cu rezistență de nivel scăzut, cu o sensibilitate bună (97,6%), fiind îndeplinit astfel obiectivul studiului. Acest mediu ar putea fi utilizat în studii ulterioare și în practică pentru depistarea și monitorizarea pacienților colonizați cu microorganisme producătoare de carbapenemaze. Alternativ, mediul ar putea fi utilizat și pentru probe de mediu. Perspectivele includ

elaborarea unor noi medii pentru izolarea microorganismelor rezistente la antibiotice și depistarea diverselor mecanisme de rezistență fenotipice.

Au fost identificate și dezvoltate metode utile pentru prevenția și controlul răspândirii microorganismelor rezistente la beta-lactamine, obiectivul propus fiind parțial îndeplinit. Direcțiile de cercetare includ implicarea în dezvoltarea și aplicarea unor programe ce țintesc îmbunătățirea colaborării interdisciplinare, practicilor privind prescrierea și consumul de antibiotice și măsuri eficiente de igienă în mediul spitalicesc.

Au fost publicate 3 articole într-o revistă cotată ISI (Clarivate Analytics) cu factor de impact (FI) ≥ 0,5 (4,3 – 4,8 la datele publicării), precum și alte articole în reviste cotate BDI, fiind îndeplinite obiectivul și criteriile privind publicarea.

2. Contribuții proprii

În urma depunerii unei cereri în cadrul proiectului EURO-MEDEX, finanțat de Ministerul Cercetării și Digitalizării, am obținut un grant pentru proiectul cu titlul „Dezvoltarea, optimizarea și validarea unui mediu pentru izolarea enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze", finalizat cu succes.

Rezultate obținute din studiile desfășurate împreună cu echipa din cadrul Disciplinei Microbiologie II au fost expuse sub formă de postere și prezentări științifice la conferințe și congrese, precum Congresul Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila" din București 2021, 2022; ECCMID, Lisabona, Portugalia 2022; ESCMID Global, Munich, Germania 2026.

Pe baza celor două medii de cultură elaborate au fost înregistrate la OSIM două cereri de brevete de invenție/inovație: „Mediu de cultură pentru testarea susceptibilității la antibiotice și identificarea mecanismelor de rezistență la beta-lactamine, procedeu de obținere și utilizare a acestuia", A/00849/2023; și „Mediu de cultură pentru izolarea enterobacteriilor producătoare de carbapenemaze, procedeu de obținere și utilizare a acestuia", A/00850/2023; rezumate publicate în BOPI nr. 6/2025, Brevete de invenție, poz. 138980 A2 și 138981 A2: https://www.osim.ro/images/Publicatii/Inventii/2025/bopi_inv_06_2025.pdf. Suplimentar, invenția cu titlul „Produs pentru testarea fenotipică a bacililor Gram negativi producători de carbapenemaze prin inactivarea imipenemului, procedeu de obținere și două metode de utilizare", A/00399/2026, a fost înregistrată la OSIM în data de 19.06.2026.

Cele 3 articole științifice principale elaborate în urma studiilor au fost publicate în revista Antibiotics (MDPI), Q1, FI 4,8 / 4,3 / 4,6 la datele publicării. Suplimentar, au fost publicate articole în reviste cotate BDI.

Bibliografie (selectivă)

1. Hammoudi Halat D, Ayoub Moubareck C. The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. Antibiotics. 2020;9(4):186. doi: 10.3390/antibiotics9040186
2. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet. 2022;399(10325):629–655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0
3. The Lancet: More than 39 Million Deaths from Antibiotic-Resistant Infections Estimated between Now and 2050, Suggests First Global Analysis Available online: https://www.healthdata.org/news-events/newsroom/news-releases/lancet-more-39-million-deaths-antibiotic-resistant-infections.
4. Perestrelo S, Amaro A, Brouwer MSM, Clemente L, Ribeiro Duarte AS, Kaesbohrer A, et al. Building an International One Health Strain Level Database to Characterise the Epidemiology of AMR Threats: ESBL—AmpC Producing E. coli as An Example—Challenges and Perspectives. Antibiotics. 2023;12(3):552. doi: 10.3390/antibiotics12030552
5. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β-Lactamase-Producing Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020;33(2):e00047-19. doi: 10.1128/CMR.00047-19
6. Jean SS, Harnod D, Hsueh PR. Global Threat of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:823684. doi: 10.3389/fcimb.2022.823684
7. **Chelaru EC**, Muntean AA, Hogea MO, Muntean MM, Popa MI, Popa GL. The Importance of Carbapenemase-Producing Enterobacterales in African Countries: Evolution and Current Burden. Antibiotics. 2024;13(4):295. doi: 10.3390/antibiotics13040295
8. Meletis G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. Therapeutic Advances in Infection. 2016;3(1):15–21. doi: 10.1177/2049936115621709
9. Pandey N, Cascella M. Beta-Lactam Antibiotics. [Updated 2023 Jun 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. Available online: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/.
10. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis. 2011;17(10):1791–1798. doi: 10.3201/eid1710.110655

11. European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC country visit to Romania to discuss antimicrobial issues: 26 10 March 2017. [Internet]. LU: Publications Office; 2018 [cited 2026 Mar 13]. Available from: https://data.europa.eu/doi/10.2900/052263

12. Molnár S, Vas KE, Székely E. Carbapenemase Producing Enterobacterales in Romania: Investigating the Origins. Revista Romana de Medicina de Laborator. 2020;28(3):341–348. doi: 10.2478/rrlm-2020-0027

13. Pirii LE, Friedrich AW, Rossen JWA, Vogels W, Beerthuizen GIJM, Nieuwenhuis MK, et al. Extensive colonization with carbapenemase-producing microorganisms in Romanian burn patients: infectious consequences from the Colectiv fire disaster. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018;37(1):175–183. doi: 10.1007/s10096-017-3118-1

14. **Chelaru EC**, Muntean AA, Muntean MM, Hogea MO, Caracoti C Ștefan, Ciomaga BF, et al. Oxacillin-Supplemented Mueller-Hinton Agar for In Vitro Inhibition of Ambler Class C β-Lactamases in Enterobacterales. Antibiotics. 2025;14(6):616. doi: 10.3390/antibiotics14060616

15. **Chelaru EC**, Muntean AA, Manea I, Hogea MO, Dinuță CM, Mazăre M, et al. Evaluation of Beta-Lactamase-Producing Strains Isolated in a Tertiary Nephrology Hospital in Romania. Antibiotics. 2026;15(6):580. doi: 10.3390/antibiotics15060580

16. Bonnin RA, Jousset AB, Emeraud C, Oueslati S, Dortet L, Naas T. Genetic Diversity, Biochemical Properties, and Detection Methods of Minor Carbapenemases in Enterobacterales. Front Med. 2021;7:616490. doi: 10.3389/fmed.2020.616490

17. Jacoby GA. AmpC β-Lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009;22(1):161–182. doi: 10.1128/CMR.00036-08

18. David S, Cohen V, Reuter S, Sheppard AE, Giani T, Parkhill J, et al. Integrated chromosomal and plasmid sequence analyses reveal diverse modes of carbapenemase gene spread among *Klebsiella pneumoniae*. Proc Natl Acad Sci USA. 2020;117(40):25043–25054. doi: 10.1073/pnas.2003407117

19. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. Clinical Infectious Diseases. 2019;69(Supplement_7):S521–S528. doi: 10.1093/cid/ciz824

20. EUCAST. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance [Internet]. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2017 [cited 2023 July 18]. Available from:

https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf

21. French Society of Microbiology, Committee for Antibiotic Susceptibility Testing (CA-SFM/EUCAST) (2024) Recommendations 2025—V1.1. SFM. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2025/07/CASFM2025_V1.1-JUILLET-2025.pdf.

22. Muntean AA, Muntean MM, Popa GL. Antibiogram Picture Guide for the Medical Microbiology Practitioner - Part 1: Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) and Cephalosporinases (AmpCs) in Enterobacterales. Roum Arch Microbiol Immunol. 2021;80(4):312-319.

23. Muntean AA, Muntean MM, Hogea MO, **Chelaru EC**, Popa MI. Antibiogram Picture Guide for the Medical Microbiology Practitioner - Part 2: Common Carbapenemases in Enterobacterales. Roum Arch Microbiol Immunol. 2023;82(4):257-266. doi: 10.54044/RAMI.2023.04.04.

24. Humphries RM. CIM City: the Game Continues for a Better Carbapenemase Test. Ledeboer NA, editor. J Clin Microbiol. 2019;57(7):e00353-19. doi: 10.1128/JCM.00353-19

25. Muntean MM, Muntean AA, Guerin F, Cattoir V, Creton E, Cotellon G, et al. Optimization of the rapid carbapenem inactivation method for use with AmpC hyperproducers. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2021;76(9):2294–2301. doi: 10.1093/jac/dkab170

26. Tamma PD, Opene BNA, Gluck A, Chambers KK, Carroll KC, Simner PJ. Comparison of 11 Phenotypic Assays for Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. Bourbeau P, editor. J Clin Microbiol. 2017;55(4):1046–1055. doi: 10.1128/JCM.02338-16

27. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals, 2022-2023. [Internet]. LU: Publications Office; 2024 [cited 2026 June 15]. Available from: https://data.europa.eu/doi/10.2900/88011 doi: 10.2900/88011

28. Lazar DS, Nica M, Dascalu A, Oprisan C, Albu O, Codreanu DR, et al. Carbapenem-Resistant NDM and OXA-48-like Producing K. pneumoniae: From Menacing Superbug to a Mundane Bacteria; A Retrospective Study in a Romanian Tertiary Hospital. Antibiotics. 2024;13(5):435. doi: 10.3390/antibiotics13050435

29. Sepp E, Andreson R, Balode A, Bilozor A, Brauer A, Egorova S, et al. Phenotypic and Molecular Epidemiology of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing

Escherichia coli in Northern and Eastern Europe. Front Microbiol. 2019;10:2465. doi: 10.3389/fmicb.2019.02465

30. León-Sampedro R, DelaFuente J, Díaz-Agero C, Crellen T, Musicha P, Rodríguez-Beltrán J, et al. Pervasive transmission of a carbapenem resistance plasmid in the gut microbiota of hospitalized patients. Nat Microbiol. 2021;6(5):606–616. doi: 10.1038/s41564-021-00879-y

31. Simner PJ, Gilmour MW, DeGagne P, Nichol K, Karlowsky JA. Evaluation of Five Chromogenic Agar Media and the Rosco Rapid Carb Screen Kit for Detection and Confirmation of Carbapenemase Production in Gram-Negative Bacilli. Patel R, editor. J Clin Microbiol. 2015;53(1):105–112. doi: 10.1128/JCM.02068-14

32. Park CH. A comparative evaluation of two chromogenic media for surveillance of carbapenem-resistant Enterobacterales with non-carbapenemase-producing or carbapenemase-producing strains other than blaKPC: blaGES-5, blaNDM-1 or blaVIM-2. Journal of Laboratory Medicine. 2019;43(3):173–176. doi: 10.1515/labmed-2018-0139

33. **Chelaru E-C**. Development, optimization, and laboratory-validation of a medium for isolation and screening of carbapenemase-producing Enterobacterales. Scientific presentation, Young Investigator, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy Congress, 10th edition, Bucharest, Romania, 2022.

34. Masseron A, Poirel L, Falgenhauer L, Imirzalioglu C, Kessler J, Chakraborty T, et al. Ongoing dissemination of OXA-244 carbapenemase-producing Escherichia coli in Switzerland and their detection. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2020;97(3):115059. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115059

Lista cu lucrările științifice publicate

1. **Chelaru E-C**, Muntean A-A, Manea I, Hogea M-O, Dinuță C-M, Mazăre M, Muntean M-M, Ghițulescu C-C, Ciomaga B-F, Caracoti C-Ș, Preoteasa D-M, Popa MI. Evaluation of Beta-Lactamase-Producing Strains Isolated in a Tertiary Nephrology Hospital in Romania. Antibiotics. 2026;15(6):580. Q1, FI 4.6/2026, Cap. 5, pg. 55-91. https://doi.org/10.3390/antibiotics15060580.

2. **Chelaru E-C**, Muntean A-A, Muntean M-M, Hogea M-O, Caracoti C-Ș, Ciomaga B-F, Naas T, Popa MI. Oxacillin-Supplemented Mueller-Hinton Agar for In Vitro Inhibition of Ambler Class C β-Lactamases in Enterobacterales. Antibiotics. 2025;14(6):616. Q1, FI 4,3/2025, Cap. 6, pg. 92-116. https://doi.org/10.3390/antibiotics14060616.

3. **Chelaru E-C**, Muntean A-A, Hogea M-O, Muntean M-M, Popa M-I, Popa G-L. The Importance of Carbapenemase-Producing Enterobacterales in African Countries: Evolution and Current Burden. Antibiotics. 2024;13(4):295. Q1, FI 4,8/2024, Cap. 7, pg. 117-132. https://doi.org/10.3390/antibiotics13040295.

4. Nicolae VI, **Chelaru EC**, Guță ȘD, Caracoti CȘ, Muntean AA. Prevention of HIV Infection Through Vaccination: Research Directions and Limits. Roum Arch Microbiol Immunol. 2020;79(3):195-208. (BDI)

5. **Chelaru EC**, Muntean MM, Muntean AA, Popa GL. β-Lactamase Producing Gram Negative Bacteria: Main Issues, Diagnostic Methods and Means of Reducing Their Burden in Romania. Roum Arch Microbiol Immunol. 2022;81(2):107-113. (BDI)

6. Dănăilă C, Ungureanu MC, Petcu LE, **Chelaru EC**. Diagnosis and Antibiotic Resistance of *Enterococcus* spp. Causing Urinary Tract Infections in Children. Roum Arch Microbiol Immunol. 2022;81(2):114-122. (BDI)

7. Chelaru RI, **Chelaru EC**, Popa MI. *Streptococcus anginosus* Pharyngitis: A Case Presentation, Treatment, and Evolution. Roum Arch Microbiol Immunol. 2023;82(2):148-152. doi:10.54044/rami.2023.02.09. (BDI)

8. **Chelaru E-C**, Muntean M-M, Hogea M-O, Lixandru EB, Dinu S, Oprea M, Muntean A-A, Popa M-I.. First DHA-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolated fom a Urinary Tract Infection in Romania. Roum Arch Microbiol Immunol. 2023;82(2):102-110. doi:10.54044/rami.2023.02.03. (BDI)

9. Filip SG, Oprea E, **Chelaru EC**. Septic Arthritis of the Sternoclavicular Joint - A Challenge. Roum Arch Microbiol Immunol. 2023;82(4):286-288. doi: 10.54044/RAMI.2023.04.07. (BDI)

10. Muntean AA, Muntean MM, Hogea MO, **Chelaru EC**, Popa MI. Antibiogram Picture Guide for the Medical Microbiology Practitioner - Part 2: Common Carbapenemases in Enterobacterales. Roum Arch Microbiol Immunol. 2023;82(4):257-266. doi: 10.54044/RAMI.2023.04.04. (BDI)

11. Mazăre M, **Chelaru EC**. Demonstration of *Bacillus cereus* in Orthopedic Implant Infection. Roum Arch Microbiol Immunol. 2024;83(1):68-69. (BDI)

12. Hogea M-O, Ciomaga B-F, Muntean A-A, **Chelaru E-C**, Dinuță C, Preoteasa D-M, Popa MI. Novel Antibiotic Molecules in Clinical Settings, a Systematic Review. Journal of Microbes in Health and Disease. 2025;1(1):100003. https://doi.org/10.53941/jmhd.2025.100003. (BDI)