

SECVENȚIEREA METAGENOMICĂ ÎN DIAGNOSTICUL REZISTENȚEI LA ANTIMICROBIENE

CZU: 615.281.9.015.8:579.61

DOI: <https://doi.org/10.52673/18570461.24.2-73.08>

Doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător **Olga BURDUNIUC**^{1,2}

E-mail: olga.burduniuc@ansp.gov.md

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6944-0800>

Doctor în științe medicale, cercetător științific superior **Marina LUPU**¹

E-mail: marinalupu17@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-1161-633X>

Doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător **Victoria BUCOV**¹

E-mail: v.e.bucova@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-1042-5947>

Cercetător științific **Livia ȚAPU**^{1,2}

E-mail: livia.tapu@ansp.gov.md

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4424-3501>

Cercetător științific stagiar **Maria ANTON**¹

E-mail: maria.anton@ansp.gov.md

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4804-7137>

Cercetător științific stagiar **Svetlana COLAC**¹

E-mail: colac.svetlana@ansp.gov.md

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0006-4505-9948>

¹ Agenția Națională pentru Sănătate Publică

² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

METAGENOMIC SEQUENCING IN THE DIAGNOSIS OF RESISTANCE TO ANTIMICROBIALS

Summary. The purpose of the article is to analyze the literature on antimicrobial resistance and the metagenomic sequencing method. In total, 32 articles published in the years 2019–2024 and some previously published classic works were analyzed. Antimicrobial resistance (AMR) is one of the most serious threats to public health, animal health and environmental well-being globally, generating high costs. Metagenomic sequencing allows the detection of all genes in a sample, providing a complete picture of AMR. By sequencing it is possible to assess the location and transmissibility of the AMR genes. As surveillance networks and metagenomic sequencing, as one of the rapid diagnostic platforms, are implemented globally, it will be possible to detect and limit infectious outbreaks at a much earlier stage, thus saving lives and substantially reducing costs. In the near future, metagenomic sequencing will no longer be a luxury but a necessity as we engage in the ongoing fight against infectious diseases.

Keywords: metagenomic sequencing, microbiome, antimicrobial resistance, human and non-human samples, risk factors.

Rezumat. Scopul articolului este analiza literaturii privind rezistența la antimicrobiene și elaborarea metodei de secvențiere metagenomică. În total au fost analizate 32 de articole publicate în anii 2019–2024 și unele lucrări clasice publicate anterior. Rezistența la antimicrobiene (RAM) este o amenințare dintre cele mai grave pentru sănătatea publică, animală și bunăstarea mediului la nivel global, generând costuri mari. Secvențierea metagenomică permite depistarea tuturor genelor dintr-o probă, oferind o imagine completă a RAM. Prin secvențiere este posibil de evaluat amplasarea și transmisibilitatea genelor RAM. Pe măsură ce rețelele de supraveghere și secvențierea metagenomică – una dintre platformele de diagnosticare rapidă – sunt implementate la nivel global, va fi posibilă detectarea și limitarea focarelor infecțioase într-un stadiu mult mai timpuriu, astfel salvând vieți și reducând substanțial costurile. În viitorul apropiat, secvențierea metagenomică nu va mai fi un lux, ci o necesitate, parte a luptei continuă împotriva bolilor infecțioase.

Cuvinte-cheie: secvențierea metagenomică, microbiom, rezistență la antimicrobiene, probe umane și non-umane, factori de risc.

INTRODUCERE

În anul 2019, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a declarat rezistența la antimicrobiene (RAM) ca fiind una dintre cele zece amenințări globale la adresa sănătății. RAM influențează negativ și realizarea obiectivului 3 de dezvoltare durabilă al Națiunilor Unite „Sănătate și bunăstare” [1; 2]. Pretutindeni în lume, inclusiv în Republica Moldova, RAM este definită ca o problemă importantă de sănătate publică, determinată de creșterea continuă a acestui fenomen și a cazurilor de decese în urma lui [3; 4].

Este bine cunoscut faptul că antimicrobienele – inclusiv antibioticele, antiviralele, antifungicele și anti-parazitarele – sunt medicamente utilizate pentru prevenirea și tratarea infecțiilor la oameni, animale sau plante. Este subliniată necesitatea utilizării antimicrobienele în cazul bolilor severe care pot duce la deces. Odată cu apariția antibioticelor, a crescut speranța de viață, iar bolile odinioară fatale au fost considerate ca fiind tratabile. Totuși, disponibilitatea antibioticelor și utilizarea iresponsabilă a acestora provoacă consecințe atât pe plan personal, cât și la nivel de sănătate publică [1; 5; 6; 7].

Rezistența bacteriană rămâne a fi o amenințare semnificativă și o cauză principală de deces la nivel mondial [8; 9; 10]. Bacteriile rezistente proliferază prin selecție naturală atunci când cele sensibile la medicamente sunt îndepărtate de antibiotice. Aceste organisme se pot răspândi în toate unitățile sanitare, precum și în comunitate, ceea ce determină o atenție sporită la măsurile de control al infecțiilor și administrarea antimicrobienele [11; 12; 13].

A fost dovedit de repetate ori că rezistența la antimicrobiene apare atunci când un microorganism supraviețuiește în pofida faptului că este expus la medicamente concepute pentru a-l inhiba sau ucide. Principalii factori determinanți ai RAM sunt utilizarea excesivă și abuzivă a preparatelor antimicrobiene [14]. În condițiile create pentru tratamentul eficace al bolnavilor, pentru evaluarea răspândirii tulpinilor rezistente de microorganisme este strict necesar de elaborat și de utilizat cele mai eficiente metode de laborator.

Secvențierea metagenomică constituie un instrument molecular utilizat pentru analizarea materialelor genomice mixte extrase din probele de mediu, care oferă informații detaliate despre diversitatea și abundența speciilor, structura populației, relația filogenetică, genele funcționale și rețeaua de corelație cu factorii de mediu. Implementarea secvențierii metagenomice face parte din politica mondială „One Health” (O singură sănătate), urmând să con-

tribuie astfel la reducerea nivelului de morbiditate, mortalitate și al costurilor în sistemul de sănătate și ulterior va contribui la perfecționarea serviciului de laborator.

Pot fi indicate cel puțin cinci motive pentru care combaterea RAM este extrem de importantă:

- estimativ 800 de mii de persoane anual sunt infectate de bacteriile rezistente;
- circa 100 de persoane zilnic au decedat în Europa în 2020 din cauza bacteriilor RAM;
- fenomenul RAM este o amenințare pentru animale, alimente, plante și mediu;
- combaterea bacteriilor rezistente presupune costuri medicale substanțiale.

Scopul acestui studiu de sinteză este analiza literaturii privind rezistența la antimicrobiene și metodei de secvențiere metagenomică.

MATERIALE ȘI METODE

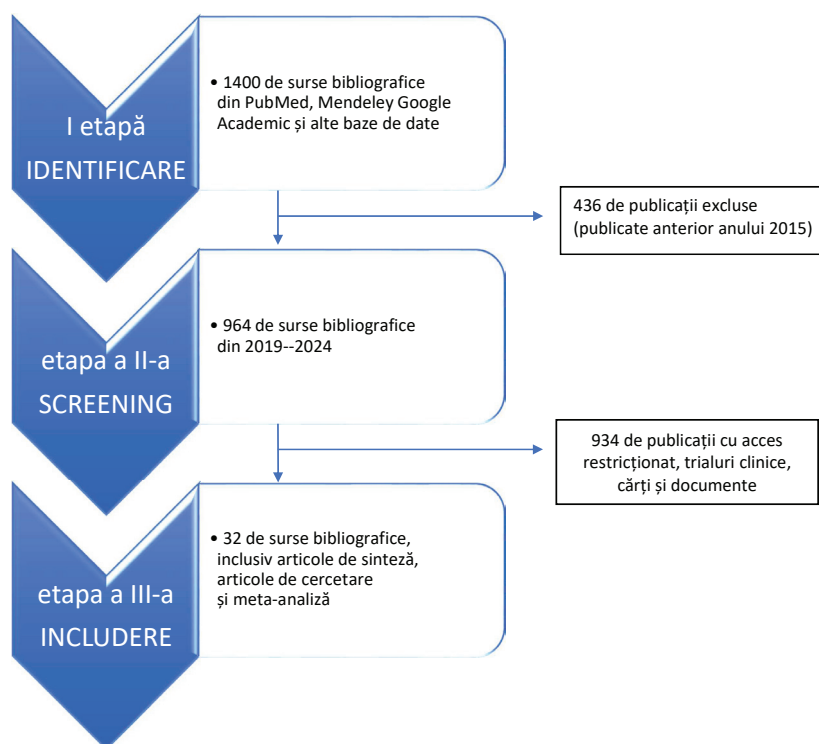
Căutarea surselor bibliografice privind problema RAM și secvențierea metagenomică au fost realizate accesând bazele de date PubMed, Mendeley Google Academic și alte baze de date, folosind cuvintele-cheie și operatorii „and”: rezistența la antimicrobiene și secvențierea metagenomică, analizând toate rezultatele și selectând doar acele publicații care se potrivesc cel mai bine cerințelor noastre.

Suplimentar, au fost analizate 5 surse bibliografice cu privire la problemele rezistenței la antimicrobiene și studiile metagenomice din cadrul diverselor platforme științifice Google Academic și fondurile bibliotecilor naționale. Materialele analizate includ documente OMS și ale altor organizații internaționale, publicații științifice din anii 2019–2024 și unele lucrări clasice publicate anterior.

Articolele au fost evaluate conform ghidurilor PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) [15]. Inițial, în cadrul căutării au fost generate 1400 de lucrări științifice, care au fost supuse testului de eligibilitate, conform următoarelor criterii de includere:

- articole publicate în perioada 2019–2024;
- publicații cu acces deschis;
- articole de sinteză a literaturii, articole de cercetare și meta-analize.

Au fost excluse din cercetare articolele publicate în perioada 2000–2015 și publicațiile cu acces restricționat (figură). În total, conform criteriilor de includere, au fost selectate 30 de articole publicate pe tema analizată.



Figură. Algoritm de selecție a articolelor pentru analiză.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezistența la antibiotice apare atunci când o bacterie evoluează și suferă mutații, prin urmare, nu mai este sensibilă la medicamentul eficient altădată. Acest proces are loc printr-o gamă variată de mecanisme, cum ar fi sinteza de noi gene, transferul acestora de la o tulpină la alta, capacitatea anumitor bacterii de a-și modifica structura externă și receptorii, astfel încât gama de antibiotice folosite să nu se poată atașa de suprafața lor, pentru a-și face efectele [5; 10].

Situația legată de rezistența la antibiotice este alarmantă, deoarece unele bacterii care în trecut nu ridicau probleme de tratament au ajuns să fie rezistente la aproape toate tipurile de antibiotice disponibile în mod obișnuit. Următoarele bacterii sunt capabile să provoace boli deosebit de grave și, prin urmare, infecțiile cu ele presupun o problemă majoră de sănătate publică [13; 16; 17]:

- *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA);
- *Enterococcus* rezistent la vancomicină (VRE);
- *Mycobacterium tuberculosis* multirezistent la medicamente (MDR-TB);
- *Enterobacteriaceae* rezistent la carbapeneme (CRE).

De asemenea, utilizarea inadecvată și întrebuițarea pe scară largă și fără prescripție medicală a antibioticelor, în patologii care nu necesită neapărat tratamente cu antibiotice și în care administrarea acestora

nu are niciun fel de eficiență, impulsionează dezvoltarea fenomenului de RAM [5; 17].

Potrivit datelor Organizației pentru Cooperare și Dezvoltare Economică, cea mai mare parte (70%) dintre toate infecțiile înregistrate apar în unitățile sanitare. Pneumoniile, infecțiile sangvine și cele abdominale sunt principalele boli cauzate de infecțiile provocate de bacteriile RAM. În grupele de risc sunt incluși copiii cu vârsta ≤ 1 an și adulții de peste 70 de ani, bărbații fiind mai sensibili decât femeile. O rată înaltă a mortalității din cauza infecțiilor provocate de bacteriile RAM este înregistrată în Grecia – 20 de decese și în Italia, respectiv 19 decese la 100 de mii de persoane, media în UE fiind de 6 decese. În același timp, în Norvegia și Olanda sunt înregistrate doar 2 decese la 100 de mii de persoane [14].

Preparatele antimicrobiene sunt pe larg utilizate și în medicina veterinară. În plus, eliminarea necorespunzătoare și utilizarea gunoierului duc la formarea tulpinilor de microorganisme rezistente la preparatele antimicrobiene. Contaminările în agricultură, dejecțiile umane și animale sunt căile principale de pătrundere a antimicrobienei în mediu [18]. Costul estimat al RAM pentru sistemele de sănătate din Europa este de 1,1 miliarde euro pe an [14].

Din metodele moderne de depistare a tulpinilor rezistente la preparatele antimicrobiene atrage o atenție deosebită analiza metagenomică. Termenul „metagenomică”, folosit pentru prima dată de J. Handelsman et al. (1998), are la bază noțiunea de genomică microbiană convențională și reflectă faptul că culturile pure nu

sunt necesare pentru secvențiere. Metagenomica este cercetarea materialului genetic recuperat direct din probe de mediu sau clinice cu utilizarea metodei de secvențiere. Această metodă este pe larg utilizată în diferite domenii – genomica medicală, de mediu, ecogenomica, genomica comunitară sau microbiomică [19].

Secvențierea metagenomică permite depistarea tuturor genelor dintr-o probă, oferind o imagine completă a RAM. Prin secvențiere este posibil de evaluat amplasarea și transmisibilitatea genei RAM. Termenul *metagenomica* pentru aplicații clinice își trage rădăcinile din utilizarea micromatricelor la începutul anilor 2000 [20]. Cu toate acestea, apariția tehnologiilor de secvențiere de ultimă generație (NGS) în 2005 a dat

startul domeniului metagenomicii cu utilizarea mai largă a acestei metode. Pentru prima dată, milioane până la miliarde de citiri au fost generate într-o singură rulare, permițând astfel analiza întregului conținut genetic al unei probe clinice sau de mediu [21].

În timp ce majoritatea testelor moleculare vizează doar un număr limitat de agenți patogeni folosind primeri sau sonde specifice, abordările metagenomice caracterizează tot ADN-ul sau ARN-ul prezent într-o probă, permițând analiza întregului microbiom, precum și a genomului-gază umană sau a transcriptomului din probele de la pacienți [20; 22; 23]. În tabel sunt elucidate unele studii din domeniul metagenomicii și RAM care, în opinia noastră, au fost mai informative.

Tabel

Studii cu privire la secvențierea metagenomică și rezistența la antimicrobiene în diferite țări ale lumii

Nr.	Autorii și țara	Anul	Concluzii
1	Danko D., Bezdán D., Afshin E. et al. SUA, Germania, Italia, Franța, Spania, Elveția, Suedia, Egipt, Australia, Brazilia, Turcia, Bulgaria, China etc.	2021	În baza cercetării a 4.728 de probe colectate în 60 de orașe s-a stabilit că profilurile genelor RAM au variat foarte mult ca tip și densitate. Aceste rezultate constituie un atlas metagenomic important pentru înțelegerea ecologiei, virulenței și rezistenței la antibiotice a comunităților microbiene specifice orașului.
2	Govender K.N., Street T.L., Sanderson N.D., Eyre D.W., Marea Britanie	2021	În baza analizei a 13 studii cu caracteristica a 2.023 de probe clinice de sânge, urină, LCR a fost stabilit că metoda metagenomică clinică are un potențial înalt pentru îmbunătățirea înțelegerii patogenozei bolilor infecțioase, detectarea infecțiilor polimicrobiene, un tratament mai eficient, reducând rezistența la antimicrobiene și lăsând microbiomul neschimbat.
3	Boolchandani M., D'Souza A.W., Dantas G., SUA	2019	Obiectivul acestui review a fost de a oferi o imagine amplă privind metodele de identificare și caracterizare a RAM, de la testarea tradițională a sensibilității antimicrobiene până la metodele recente de studiere amplă. S-a axat preponderent pe descoperirea rezistenței bazate pe secvențiere. S-a discutat importanța creării bazelor de date.
4	Duan H., Li X, Mei A. et al., China	2021	În baza cercetărilor comparative a 109 probe de lichid de lavaj bronhoalveolar, sânge, spută, puroi, LCR etc., s-a constatat că mNGS a avut o sensibilitate mai mare decât metoda tradițională, în special privind probele de sânge, lichidul de lavaj bronhoalveolar și probele de spută. mNGS ar trebui utilizată mai mult în diagnosticul precoce al agenților patogeni în viitor.
5	Chen Y., Wang J., Niu T., China	2024	Analiza a 22 de studii cu 2.325 de pacienți cu patologii hematologice a arătat că mNGS are rate înalte de detecție pozitivă a agentului patogen la pacienții hematologici și poate ghida ajustările clinice privind tratamentul cu antibiotice și îmbunătăți prognosticul.
6	Chiu C.Y., Miller S.A., SUA	2019	La analiza aplicațiilor mNGS, utilizate în prezent în clinică și în domeniul sănătății publice, s-a stabilit că în clinică este aplicată pe larg în diagnosticarea bolilor infecțioase analiza microbiomului, analiza răspunsului gazdei, inclusiv în oncologie.
7	Hilt E.E., Ferrieri P., SUA	2022	Au fost analizate trei tehnologii moderne: secvențierea întregului genom (WGS), secvențierea metagenomică țintită și secvențierea metagenomică pușcă. Secvențierea țintită și metagenomică directă din probe ajută la creșterea detectării organismelor de interes, în special în cazurile când metodele convenționale sunt nesensibile sau nu sunt disponibile.

8	Ren D., Ren C., Yao R. et al., China	2021	Prin investigarea a 305 probe de lichid de lavaj bronhoalveolar, sânge, LCR etc. cu utilizarea mNGS s-a stabilit că este posibil de identificat mai mulți agenți patogeni și mai frecvent, comparativ cu metoda de creștere pe medii de cultură. Valorile optime de citire pentru diferiți microbi ar putea fi utile pentru aplicarea clinică a mNGS în ceea ce privește determinarea în timp util și cu precizie a etiologiei agenților patogeni în sepsis, datorită unei interpretări bune a datelor.
9	Sukumar S., Martin F.E., Hughes T.E., Adler C.J., Australia	2020	Amploarea și viteza cu care s-a răspândit rezistența la antibiotice înseamnă că aceasta este o problemă globală, cu soluții necesare la fiecare nivel. O înțelegere sporită a resistomului și a modului în care acesta interacționează cu mediul va duce la soluții mai eficiente, cum ar fi noi terapii, programe de administrare mai bine concepute și o eficacitate crescută a antibioticelor existente.
10	Vinicius A. C. de Abreu, Perdigão J., Almeida S., Brazilia, India	2021	Pentru studierea RAM este importantă: analiza diversității microbiene, analiza genelor funcționale și căutarea celor mai complete și relevante baze de date privind rezistența. Cele mai importante considerații într-un studiu de rezistență metagenomică sunt înțelegerea naturii setului de date analizat și a suportului disponibil pentru procesul de analiză. Acest lucru va permite dezvoltarea unor abordări de analiză a datelor cu randament ridicat și răspunsul la întrebări mai complexe privind rezistența la antimicrobiene.

Grupul de autori Danko D., Bezdán D., Afshin E.E. et al. (2021) pe parcursul a 3 ani a evaluat prin analiza metagenomică 4.728 de probe din transportul public în masă (metrou, autobuze etc.) în 60 de orașe și a creat primul catalog sistematic la nivel mondial al ecosistemului microbial urban. Drept rezultat a fost obținut un atlas cu profilul geospațial adnotat al tulpinilor microbiene, markeri de rezistență antimicrobiană și elemente genetice. Deoarece oamenii reprezintă partea majoră a unui mediu urban, s-a presupus că ADN-ul din probele umane se aseamănă cu microbiomii umani comensali. Au fost comparate fragmente de ADN non-uman din probele de studiu cu 50 de probe selectate aleatoriu din cinci situsuri anatomice comensale (scaun, piele, căi respiratorii, tract gastrointestinal, tract urogenital). Eșantioanele prelevate de pe suprafețe care ar fi fost probabil atinse mai des de pielea umană, cum ar fi mânerul ușilor, butoanele, balustradele și ecranele tactile, au fost într-adevăr mai asemănătoare cu microbiomul pielii umane decât suprafețe precum ferestrele și podeaua [24].

Secvențierea metagenomică este adesea susținută pentru potențialul de a revoluționa microbiologia prin posibilitatea identificării concomitente și rapide a speciilor și predicția rezistenței la antimicrobiene. În review-ul sistematic și meta-analiza prezentată de Govender K.N., Street T.L., Sanderson N.D., Eyre D.W. (2021) a fost evaluat progresul către aceste evoluții, prin revizuirea sistematică și o meta-analiză a publicațiilor până în anul 2020 privind secvențierea metagenomică pentru diagnosticarea bolilor infecțioase, o metodă care nu necesită cultivarea microorganismelor. În total 2.023 de probe clinice din 13 studii eligibile au fost incluse în meta-analiză. Sensibilitatea și specificitatea celor mai frecvent investigate tipuri de

probe au fost de 90% (interval de încredere [IC] 95%, 78% până la 96%) și 86% (45% până la 98%) pentru sânge, 75% (54% până la 89%) și 96% (72% până la 100%) pentru lichidul cefalorahidian (LCR). Timpul în medie (IQR; interval) de la colectarea probei la rezultat a fost de 29 de ore (24 până la 94; 4 până la 144 de ore). Un alt aspect, nu mai puțin important, a fost costul consumabil raportat pe eșantion, care a variat între 130 și 685 USD. În final aceste rezultate reflectă o perspectivă promițătoare pentru utilizarea de secvențiere metagenomică în condiții clinice [25].

În review-ul publicat de Boolchandani M., D'Souza A.W., Dantas G. (2019) au fost analizate punctele forte și punctele slabe ale metodelor actuale și emergente de studiere a RAM, inclusiv strategii de calcul și resurse pentru identificarea genelor de rezistență în probe genomice și metagenomice. Autorii au concluzionat că identificarea precisă a determinanților rezistenței și corelarea profilurilor genelor de RAM cu rezultatele tratamentului antimicrobian vor facilita în viitor abordări de tratament individual. Succesul acestei abordări depinde în mare măsură de complexitatea și calitatea bazelor de date generale ale genelor de RAM, care au roluri majore în dezvoltarea de teste biologice și instrumente de calcul, ce extind capacitatea de a detecta gene de rezistență în izolatele individuale și în comunitățile microbiene [26].

În cadrul unor meta-analize autorii s-au axat pe provocările implementării secvențierii metagenomice de generația următoare (mNGS) în laboratorul clinic și au abordat potențialele soluții pentru optimizarea impactului acestuia asupra îngrijirii pacienților și sănătății publice. Analiza cuprinzătoare a materialului genetic microbial și gazdă (ADN și ARN) din probele de la pacienți trece rapid de la cercetare la laboratoare clinice.

Această abordare în curs de dezvoltare schimbă modul în care medicii stabilesc diagnosticul și tratează bolile infecțioase, cu aplicații care acoperă o gamă largă de domenii, inclusiv RAM, microbiomul, expresia genei-gază umane (transcriptomica) și oncologie [20; 27; 28].

Hilt E.E. și Ferrieri P. (2022) în review-ul pe care îl semnează aduc dovezi privind necesitatea și utilitatea aplicării în prezent a tehnologiilor de secvențiere de noua generație (NGS) în cercetarea științifică, în mediile de sănătate publică și în microbiologia clinică. Spre exemplu, în domeniul sănătății publice, WGS (secvențierea întregului genom) este utilizată pentru a identifica și urmări epidemiologic focarele de origine alimentară și supravegherea bolilor; în sistemele spitalicești, WGS este utilizată pentru identificarea infecțiilor nosocomiale multirezistente și pentru urmărirea transmiterii agenților cauzali care le provoacă [29].

Un alt studiu privind mNGS, realizat de Ren D., Ren C., Yao R. ș.a. (2021) în China, a arătat că mNGS este capabilă să identifice mai mulți agenți patogeni în probe separate de la pacienți septici și prezintă rate pozitive mai mari decât diagnosticele microbiologice bazate pe cultură. Valorile optime de citire a rezultatelor pentru diferiți microbi ar putea fi utile pentru aplicarea clinică a mNGS în ceea ce privește determinarea în timp util și cu precizie a etiologiei agenților patogeni în sepsis, datorită unei interpretări bune a datelor [30].

RAM nu mai este o previziune care amenință modul nostru de viață, este realitate și impune o povară semnificativă la nivel mondial [31; 32]. Articolul de sumarizare a unor savanți din Australia a descris amploarea RAM și o contextualizează pentru medicii stomatologi, evidențiind rolul pe care trebuie să-l joace în limitarea progresiei rezistenței prin administrarea antibioticelor și prevenirea bolilor. În plus, Consiliul Național pentru Sănătate și Cercetare Medicală a estimat că RAM costă în Australia circa 250 de milioane USD anual [31].

CONCLUZII

Pornind de la necesitatea elaborării măsurilor complexe privind combaterea rezistenței la antimicrobiene și stabilirea impactului semnificativ al tulpinilor rezistente în sectorul uman, veterinar și mediu, este importantă implementarea metodelor avansate, complexe de diagnostic și abordarea adecvată a acestui fenomen.

Pe măsură ce rețelele de supraveghere RAM implementează platforme de diagnosticare rapidă, cum ar fi secvențierea metagenomică, va fi posibilă detectarea și limitarea focarelor infecțioase într-un stadiu mult mai precoce, astfel salvând vieți și reducând costurile.

Implementarea secvențierii metagenomice este o necesitate stringentă pentru supravegherea și controlul rezistenței la antimicrobiene.

BIBLIOGRAFIE

1. World Health Organisation (WHO). Antimicrobial resistance, [online] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (consultat: 19.02.2024).
2. United Nation. Department of Economic and Social Affairs Sustainable Development. Goal 3. Ensure healthy lives and promote well-being for all at all ages, [online] <https://sdgs.un.org/goals/goal3> (consultat: 07.02.2024).
3. Murray, C.J., Ikuta, K.S., Sharara, F. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. In: *The Lancet*, February, 2022, vol. 399 (10325), 629-655.
4. Naylor, N.R., Atun, R., Zhu, N. et al. Estimating the burden of antimicrobial resistance: a systematic literature review. In: *Antimicrob Resist Infect Control* 7, 58 (2018), <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0336-y>
5. Habboush, Y., Guzman, N. Antibiotic Resistance. 2023, Jun 20. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL).
6. Hutchings, M.I., Truman, A.W., Wilkinson, B. Antibiotics: past, present and future. In: *Current Opinion Microbiology*. 2019, Oct; 51: 72-80.
7. Machowska, A., & Lundborg, C. S. Drivers of irrational use of antibiotics in Europe. In: *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019 (Vol. 16, Issue 1), <https://doi.org/10.3390/ijerph16010027>
8. Wall, S. Prevention of antibiotic resistance - an epidemiological scoping review to identify research categories and knowledge gaps. In: *Glob Health Action*, 2019, Dec 13; 12(1):1756191.
9. Wallace, M.J., Fishbein, SRS, Dantas, G. Antimicrobial resistance in enteric bacteria: current state and next-generation solutions. In: *Gut Microbes*, 2020, Nov 9; 12(1):1799654.
10. Subramaniam, G., Girish M. Antibiotic Resistance – a cause for reemergence of infections. In: *Indian J. Pediatr.*, 2020, Feb 5, 937-944.
11. Bucov, V., Burduniuc, O., Balan, G. et al. Rezistența la antimicrobiene. Caracteristica rezistenței la preparate antimicrobiene a bacteriilor gram-negative. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*, 2021, nr. 1(88), 50-56.
12. Al Wutayd, O., Al Nafeesah, A., Adam, I., Babikir, I. The antibiotic susceptibility patterns of uropathogens isolated in Qassim, Saudi Arabia. In: *J Infect Dev Ctries*. 2018, Nov 30; 12(11):946-952.
13. National Foundation for Infectious Diseases. Antibiotic Resistance, [online] <https://www.nfid.org/antibiotic-resistance/> (consultat: 07.03.2024).
14. Consiliul European/Consiliul Uniunii Europene. Cinci motive pentru a acorda importanță rezistenței la antimicrobiene (RAM), [online] <https://www.consilium.europa.eu/ro/infographics/antimicrobial-resistance/> (consultat: 07.02.2024).
15. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Guidelines, [online] http://prisma-statement.org/documents/PRISMA_2020_checklist.pdf (consultat: 19.02.2024).
16. Rezistența la antibiotice: ce este și cum poate fi prevenită, [online] <https://www.catena.ro/rezistența-la-antibiotice-ce-este-si-cum-poate-fi-prevenita> (consultat: 07.03.2024).

17. Antimicrobial resistant bacteria – Better Health Channel, [online] <https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/conditionsandtreatments/antibiotic-resistant-bacteria> (consultat: 07.03.2024).
18. Pérez-Cobas, A.E., Gomez-Valero, L., Buchrieser, C. Metagenomic approaches in microbial ecology: an update on whole-genome and marker gene sequencing analyses. In: *Microb Genom.* 2020, Aug; 6(8).
19. Handelsman, J., Rondon, M.R., Brady, S.F. et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. In: *Chem Biol.* 1998, Oct; 5(10), p. 86.
20. Chiu, CY, Miller, SA. Clinical metagenomics. In: *Nat Rev Genet.* 2019, Jun; 20(6):341-355.
21. Voelkerding, K.V., Dames, S.A., Durtschi, J.D. Next-generation sequencing: from basic research to diagnostics. In: *Clin. Chem.*, 2009, 55:641-658.
22. Waskito, L.A., Rezkitha, Y.A.A., Vilaichone, R.K. et al. Antimicrobial Resistance Profile by Metagenomic and Metatranscriptomic Approach in Clinical Practice: Opportunity and Challenge. In: *Antibiotics (Basel).* 2022 May 13; 11(5):654.
23. Zhang, Y., Chen, J., Yi X et al. Evaluation of the metagenomic next-generation sequencing performance in pathogenic detection in patients with spinal infection. In: *Cell Infect Microbiol.* 2022, Oct 27; 12:967584.
24. Danko, D., Bezdán, D., Afshin, E.E. et al. International MetaSUB Consortium. A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. In: *Cell.* 2021, Jun 24; 184(13):3376-3393.e17.
25. Govender, K.N., Street, T.L., Sanderson, N.D., Eyre, D.W. Metagenomic Sequencing as a Pathogen-Agnostic Clinical Diagnostic Tool for Infectious Diseases: a Systematic Review and Meta-analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies. In: *J. Clin. Microbiol.* 2021, Aug 18; 59(9).
26. Boolchandani, M., D'Souza, A.W., Dantas, G. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance. In: *Nat Rev Genet.* 2019 Jun; 20(6):356-370.
27. Duan, H., Li, X., Mei, A., et al. The diagnostic value of metagenomic next generation sequencing in infectious diseases. In: *BMC Infect Dis.* 2021 Jan 13; 21(1):62.
28. Chen, Y., Wang, J., Niu, T. Clinical and diagnostic values of metagenomic next-generation sequencing for infection in hematology patients: a systematic review and meta-analysis. In: *BMC Infect Dis.* 2024 Feb 7; 24(1):167.
29. Hilt, E.E., Ferrieri, P. Next Generation and Other Sequencing Technologies in Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases. *Genes (Basel).* 2022 Aug 31; 13(9):1566.
30. Ren, D., Ren, C., Yao, R. et al. The microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing in patients with sepsis. *BMC Infect Dis.* 2021 Dec 16; 21(1):1257.
31. Sukumar, S., Martin, F.E., Hughes, T.E., Adler, C.J. Think before you prescribe: how dentistry contributes to antibiotic resistance. *Aust Dent J.* 2020 Mar; 65(1):21-29.
32. Vinicius, A. C. de Abreu, Perdigão, J., Almeida, S. Metagenomic Approaches to Analyze Antimicrobial Resistance: An Overview. In: *Front Genet.* 2021, Jan 18; 11:575592.

NOTĂ. Articolul a fost realizat în cadrul subprogramului de cercetare *Supravegherea rezistenței la antimicrobiene prin utilizarea tehnologiei de secvențiere metagenomică*, codul 130.103, din cadrul Programului instituțional de cercetare al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică.



Tatiana Vatavu. *Amintiri I*, 2023, batic, tehnică mixtă, 400 × 950 mm.