Rezistența la antimicrobiene (RAM) a bacililor gramnegativi (BGN) constituie o preocupare tot mai importantă pentru sănătatea publică. Infecțiile cauzate de BGN multi-rezistenți sunt o provocare majoră pentru sistemele de sănătate prin complexitatea lor, consecințele grave, impactul social și economic, fiind responsabile de un număr semnificativ de consultații medicale, costuri ridicate din bugetul alocat sănătății. Activitățile realizate în anul curent au permis atingerea obiectivelor planificate în cadrul acestei cercetări. Astfel, au fost regenerate tulpini izolate din biosubtrate și testate prin metode fenotipice în scopul confirmării mecanismelor de rezistență. Inițial au fost determinate profilurile de rezistență, iar rezultatele demonstrează indici îngrijorători de rezistență la antimicrobienele testate.

 Datele obținute atestă o rezistență evidentă și, în unele cazuri, combinată a BGN la mai multe grupuri de antimicrobiene. Analizând nivelul de rezistență combinată a *E. coli* la cefalosporine GIII-a, fluorchinolone și aminoglicozide, s-a observat că 28,6% din tulpinile investigate în anul curent au prezentat rezistență combinată la aceste grupe de preparate. *K. pneumoniae* a prezentat rezistență semnificativă la cefalosporine GIII-a – 92,7% și rezistență combinată la cefalosporine GIII-a, fluorchinolone și aminoglicozide în proporție de 90,2%. *Acinetobacter* spp. s-a dovedit a fi multi-rezistent în 89,7% la carbapeneme, fluorchinolone și aminoglicozide. *P. aeruginosa* a prezentat rezistență majorată la carbapeneme - 57,1% cazuri și la aminoglicozide – 42,9%. În scopul elucidării mecanismelor de rezistență a fost utilizată tehnica de biologie moleculară (Real-Time Multiplex PCR), care a permis evidențierea genelor responsabile de sinteza producerii BLSE și carbapenemazelor (blaOXA-48, blaNDM, blaVIM la enterobacterii și *P. aeruginosa*; blaOXA-23 și blaOXA-40 la *Acinetobacter* spp.). Din tulpinile de *P. aeruginosa* testate prin PCR, au fost confirmate tulpini producente de carbapenemaze de tip VIM - 28,6 %, de tip IMP - 26,8% și de tip NDM - 14,2%. Îngrijorător este faptul că au fost detectate tulpini care exprimă concomitent 2-3 gene codificatoare pentru enzime responsabile de rezistență. La 32,1% din tulpinile de *A. baumanii* au fost confirmate gene codificătoare pentru enzima de tip OXA-23, la iar la 35,7% – OXA-40. Genele de rezistenă la carbapeneme a enterobacteriilor s-au dovedit a fi - blaOXA-48 - 33,3%, blaNDM – 11,1%, VIM și IMP - 22,2%. Rezultatele evaluării profilurilor și genelor de rezistență a BGN (producerea de BLSE, carbapenemaze) au servit ca evidențe în actualizarea Programului Național pentru Supravegherea și Controlul Rezistenței la Antimicrobiene 2023-2028.

 A fost încheiat un acord de colaborare cu Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”, în baza căruia cercetătorii științifici au vizitat instituția pentru schimbul de experiență și însușirea bunelor practici în diagnosticul RAM. Standarizarea metodologiei de diagnostic, prevenirii și controlului BGN rezistenți la carbapeneme în instituțiile medicale a fost transpusă în două ghiduri elaborate. Laboratorul microbiologic este element esențial în diagnosticul rezistenței la antimicrobiene, iar dezvoltarea competențelor profesionale a personalului este crucial în asigurare calității investigațiilor. În acest context, au fost organizate și desfășurate 4 ateliere de lucru pentru personalul din cadrul rețelei naționale de laboratoare microbiologice publice și private.

Antimicrobial resistance (AMR) of gram-negative bacilli (GNB) is a growing public health concern. Infections caused by multi-resistant GNB are a major challenge for health systems due to their complexity, serious consequences, social and economic impact, being responsible for a significant number of medical consultations, high costs covered by the health budget. The activities carried out in the current year allowed to achieve the objectives planned in this research. Thus, strains isolated from specimens were regenerated and tested by phenotypic methods in order to confirm resistance mechanisms. Resistance profiles were initially determined and the results demonstrate alarming rates of resistance to tested antimicrobials.

 The obtained data show an obvious and, in some cases, combined resistance of GNB to several groups of antimicrobials. Analyzing the level of *E. coli* combined resistance to 3rd generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides, it was observed that 28,6% of the strains investigated during current year showed combined resistance to these groups of antimicrobials. *K. pneumoniae* showed significant resistance to 3rd gen. cephalosporins – 92,7% and combined resistance to 3rd gen. cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides in a proportion of 90,2%. *Acinetobacter* spp. was found to be multi-resistant in 89,7% to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides. *P. aeruginosa* showed increased resistance to carbapenems – 57,1% and to aminoglycosides – 42,9%. In order to highlight the mechanisms of resistance, the molecular biology technique (Real-Time Multiplex PCR) was used, which allowed the identification of the genes responsible for the synthesis of ESBL and carbapenemases (blaOXA-48, blaNDM, blaVIM in enterobacteria and *P. aeruginosa*; blaOXA- 23 and blaOXA-40 in *Acinetobacter* spp.). *P. aeruginosa* strains tested by PCR were confirmed as VIM-type carbapenemases-producing strains – 28,6%, IMP-type – 26,8% and NDM-type – 14,2%. Worryingly, some strains have been detected that simultaneously express 2-3 genes encoding enzymes responsible for resistance. Genes encoding OXA-23 type enzyme were confirmed in 32,1% of *A. baumanii* strains, and in 35,7% – OXA-40. Carbapenem resistance genes of enterobacteria were found to be - blaOXA-48 – 33,3%, blaNDM – 11,1%, VIM and IMP – 22,2%. The results of the evaluation of GNB resistance profiles and genes (production of ESBL, carbapenemases) served as evidence in updating of the National Program for the Surveillance and Control of Antimicrobial Resistance 2023-2028.

A collaboration agreement was concluded with the National Institute of Research & Development for Microbiology & Immunology “Cantacuzino”, based on which the scientific researchers visited the institution for the exchange of experience and for acquisition of advanced experience in the AMR diagnosis. Standardization of the diagnostic methodology, prevention and control of carbapenem-resistant GNB in medical institutions has been transpose into two elaborated guidelines. The microbiological laboratory is an essential element in the antimicrobial resistance diagnosis and professional skills development of the staff is crucial in ensuring the quality of investigations. In this context, 4 workshops were organized and conducted for the staff of the national network of public and private microbiological laboratories.