



DOI: 10.5281/zenodo.22070145 · UDC: 579.25:579.6/.8+615.33.015.8

SECVENȚIEREA METAGENOMICĂ ÎN SUPRAVEGHEREA INTEGRATĂ A REZISTENȚEI LA ANTIMICROBIENE

METAGENOMIC SEQUENCING IN INTEGRATED ANTIMICROBIAL RESISTANCE SURVEILLANCE

Livia Țapu^{1,2}, Svetlana Colac^{1,2}, Veronica Burlac^{1,2}, Olga Burduniuc^{1,2}

¹ Laboratorul științific Supravegherea rezistenței la antimicrobiene, Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova

² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

REZUMAT

Obiective. Supravegherea rezistenței la antimicrobiene necesită compararea rezistomurilor între populația umană, sectorul animal și mediul, în condiții de eșantionare și analiză reproductibile. A fost realizat un reviu narativ cu extracție cantitativă, pentru identificarea modelelor de supraveghere metagenomică.

Metode. Au fost căutate lucrări în PubMed/MEDLINE, PubMed Central și Europe PMC pentru perioada 1 ianuarie 2019 – 14 iulie 2026. Din 48 de înregistrări, șase duplicate au fost eliminate, nouă publicații au fost excluse după titlu și/ sau rezumat și 15 după lectura integrală. Au fost incluse 18 studii cu date cantitative și cu o componentă de supraveghere a rezistomului.

Rezultate. Patru studii (22,2%) au vizat populații umane, șase (33,3%) animale sau interfețe O Singură Sănătate, iar opt (44,4%) mediul. Douăsprezece studii (66,7%) au avut design transversal și/ sau ecologic, patru (22,2%) au fost longitudinale sau cu probe pereche, iar două (11,1%) au fost re-analize globale. Dimensiunea eșantioanelor a variat între 59 și 490 de participanți și între 90 și 592 de probe animale sau O Singură Sănătate, ajungând la 757 de probe de ape uzate din 101 țări. Numai două studii au utilizat citiri lungi sau asamblare hibridă; în abordarea hibridă, citirile lungi generate pe platforme Oxford Nanopore Technologies au fost combinate cu citiri scurte Illumina pentru asocierea genă – element genetic mobil – gazdă.

Concluzii. Capătă prioritate extinderea secvențierii shotgun în biosubstrate umane eligibile, eșantionarea longitudinală și multi-punct a apelor reziduale, operaționalizarea componentei animale și validarea rezultatelor prin cultură, antibiogramă și secvențierea izolatelor. Fluxurile bioinformatic versionate și metadatele standardizate sunt condiții ale comparabilității.

Cuvinte-cheie: secvențiere metagenomică, rezistom, rezistență la antimicrobiene, O Singură Sănătate

ABSTRACT

Objectives. Antimicrobial resistance surveillance requires comparing resistance profiles across the human population, the animal sector, and the environment, under reproducible sampling and analysis conditions.

Methods. A narrative review with standardized extraction of quantitative data was conducted to identify metagenomic surveillance models. We searched PubMed/MEDLINE, PubMed Central, and Europe PMC for studies published between 1st January 2019 and 14th July 2026. Of 48 records, six duplicates were removed, nine publications were excluded based on title and/or abstract, and 15 were excluded after full-text review. Eighteen studies reporting quantitative data and including a resistome-surveillance component were included.

Results. Four studies (22.2%) focused on human populations, six (33.3%) on animals or One Health interfaces, and eight (44.4%) on the environment. Twelve studies (66.7%) had a cross-sectional and/or ecological design, four (22.2%) were longitudinal or paired-sample studies, and two (11.1%) were global bioinformatic reanalyses. Sample sizes ranged from 59 to 490 participants and from 90 to 592 animal or One Health samples, reaching 757 wastewater samples from 101 countries. Only two studies used long reads or hybrid assembly; in the hybrid approach, Oxford Nanopore Technologies long reads were combined with short Illumina reads to resolve gene–mobile genetic element–host associations.

Conclusions. Priority should be given to expanding shotgun sequencing to eligible human biospecimens, conducting longitudinal and multi-site sampling of wastewater, operationalizing the animal component, and validating results through culture, antibiotic susceptibility testing, and sequencing of isolates. Versioned bioinformatics pipelines and standardized metadata are prerequisites for comparability.

Keywords: metagenomic sequencing, resistome, antimicrobial resistance, One Health

Introducere

Supravegherea rezistenței la antimicrobiene (RAM) urmărește distribuția, variația temporală și circulația determinantilor de rezistență în populații și ecosisteme. În acest cadru, secvențierea metagenomică nu este doar o metodă de identificare a microorganismelor, ci o tehnologie de măsurare a rezistomului comunitar. Un program de supraveghere trebuie să distingă între semnalul biologic real și variația indusă de locul, momentul și modul de prelevare, de extracția acizilor nucleici, de profunzimea secvențierii și de baza de date de referință cu care sunt comparate citirile sau configurile obținute prin secvențiere.

Terminologic, metagenomica se aplică materialului genetic total din probe mixte. Izolatele bacteriene pure sunt caracterizate, de regulă, prin secvențierea întregului genom. În supravegherea RAM, cele două niveluri sunt complementare: metagenomica estimează diversitatea și abundența genelor din comunitate, iar genomica izolatelor, cultura și antibiograma confirmă gazda, contextul genomic și expresia fenotipică. Această delimitare previne interpretarea eronată a detectării unei gene drept dovadă directă a unei tulpini viabile, transmisibile sau clinic rezistente.

Apele uzate au demonstrat posibilitatea comparării rezistomurilor la scară populațională, de la 79 de locații din 60 de țări până la 757 de probe provenite din 101 țări [1,2]. În sectorul animal, eșantionarea agregată la nivel de efectiv a permis examinarea a 538 de efective din nouă țări europene [3]. În populațiile umane, re-analizele globale au integrat zeci de mii de metagenomi cu sute de mii de genomuri de izolate, oferind o perspectivă asupra taxonilor care transportă gene relevante clinic [4]. Aceste exemple arată că utilitatea metagenomicii pentru sănătatea publică depinde în primul rând de arhitectura supravegherii: populația-țintă, unitatea de eșantionare, repetarea în timp, metadatele și strategia de validare.

Scopul reviuului a fost sintetizarea studiilor originale, disponibile în text integral și identificabile prin DOI, care utilizează secvențierea metagenomică pentru supravegherea rezistomului în probe umane, animale și de mediu, precum și evidențierea implicațiilor operaționale pentru dezvoltarea sistemelor integrate de supraveghere a rezistenței la antimicrobiene.

Material și metode

A fost realizat un reviu narativ cu căutare structurată și extragere standardizată a datelor numerice raportate în studiile incluse. Calitatea raportării a fost orientată după scala SANRA (eng. Scale for the Assessment of Narrative Review Articles) pentru articole de sinteză narativă [5]. Căutarea finală a fost efectuată până pe 14 iulie 2026 în PubMed/MEDLINE, PubMed Central și Europe PMC, fiind completată prin verificarea referințelor și a articolelor citante. Intervalul de publicare a fost 1 ianuarie 2019 – 14 iulie 2026.

Strategia de căutare a combinat termenii: (“metagenomic

sequencing” OR “shotgun metagenomics” OR “long-read metagenomics”) AND (“antimicrobial resistance” OR resistome OR “antibiotic resistance genes”) AND (surveillance OR monitoring OR transmission OR One Health) AND (human OR hospital OR livestock OR swine OR poultry OR wastewater OR sewage OR soil OR water). Disponibilitatea textului integral și corectitudinea DOI-ului au fost verificate pe pagina editorului sau în depozitul PubMed Central.

Criteriile de includere au fost: (1) cercetare originală, cu date cantitative; (2) publicare în perioada stabilită; (3) probe umane, animale, alimentare sau de mediu ori eșantionare conectată între aceste sectoare; (4) secvențiere shotgun, cu citiri lungi, hibridă sau re-analiză de metagenomi; (5) rezultat privind genele RAM, rezistomul, elementele genetice mobile ori transmiterea intersectorială; (6) raportarea dimensiunii eșantionului, a numărului de situri sau a intervalului temporal; (7) text integral disponibil electronic, acces deschis și DOI; (8) limba engleză sau română.

Au fost excluse: articolele de sinteză, editoriale și rezumatele fără articol integral; studiile orientate exclusiv spre diagnosticul clinic, fără obiectiv de supraveghere; cercetările bazate numai pe amplicon 16S fără analiza genelor RAM; secvențierea întregului genom (WGS) exclusiv al izolatelor, fără componentă metagenomică; publicațiile anterioare anului 2019; înregistrările fără text integral sau DOI; duplicatele și rapoartele secundare ale aceleiași cohorte, când era disponibilă o analiză mai cuprinzătoare.

Căutarea în bazele de date, completată prin verificarea bibliografiilor și a articolelor citante, a identificat 48 de înregistrări. După eliminarea a șase duplicate, 42 de înregistrări au fost evaluate pe baza titlului și/sau a rezumatului. În această etapă au fost excluse nouă publicații; motivele excluderii au inclus tipul neeligibil al publicației, precum articole de sinteză sau editoriale, orientarea exclusivă spre diagnosticul clinic, fără un obiectiv de supraveghere, precum și necoresponderea cu domeniul și componenta metagenomică stabilite pentru acest reviu.

Ulterior, 33 de publicații au fost evaluate în text integral. Dintre acestea, 15 au fost excluse deoarece nu îndeplineau cel puțin unul dintre criteriile de eligibilitate predefinite: nu prezentau o cercetare originală cu date cantitative; nu aveau un obiectiv de supraveghere a rezistomului sau a genelor de rezistență la antimicrobiene; utilizau exclusiv secvențierea ampliconului 16S, fără analiza genelor RAM; utilizau exclusiv secvențierea întregului genom al izolatelor bacteriene, fără o componentă metagenomică; nu raportau datele cantitative sau informațiile minime privind dimensiunea eșantionului, numărul de situri ori intervalul temporal, necesare analizei comparative; sau reprezentau rapoarte secundare ale unor cohorte deja incluse printr-o publicație mai cuprinzătoare. În urma aplicării criteriilor de eligibilitate, în analiza finală au fost incluse 18 studii.

Pentru fiecare studiu au fost extrase: autorul, țara, anul, scopul, tipul studiului, criteriile de eligibilitate ale probelor și/sau participanților, dimensiunea eșantionului, matricea

biologică, platforma și DOI-ul. Studiile au fost grupate în trei domenii: uman, animal sau *O Singură Sănătate* și mediu. S-au calculat proporții descriptive și intervale ale dimensiunii eșantioanelor. Nu a fost realizată meta-analiză, deoarece unitățile de analiză, metodele de cuantificare, bazele de date RAM și indicatorii raportați au fost eterogeni.

Rezultate

Selecția și caracteristicile studiilor incluse

Dintre cele 18 studii incluse, patru (22,2%) au analizat populații umane, șase (33,3%) au vizat animale sau interfețe *O Singură Sănătate*, iar opt (44,4%) au investigat ape uzate, ape de coastă sau nămol activ. Douăsprezece studii (66,7%) au avut design transversal, ecologic sau comparativ, patru (22,2%) au inclus probe pereche, urmărire longitudinală ori serii temporale, iar două (11,1%) au fost re-analize bioinformaticale ale datelor metagenomice disponibile public, provenite din mai multe țări. În studiile incluse a predominat secvențierea shotgun cu citiri scurte, reprezentând fragmente de ADN de câteva sute de nucleotide, generate de regulă prin platforme Illumina. Numai două studii (11,1%) au utilizat explicit citiri lungi, care cuprind mii sau zeci de mii de nucleotide, ori secvențiere hibridă, care combină citirile scurte cu cele lungi, pentru asocierea genelor de rezistență la antimicrobiene cu elementele genetice mobile și microorganisme-gază. Această abordare permite reconstruirea mai completă a secvențelor și asocierea genelor de rezistență cu elementele genetice mobile și microorganisme-gază.

Cohortele umane au cuprins 59–490 participanți, iar analiza globală cea mai amplă a inclus 14.850 de metagenomi umani, 1.666 de metagenomi de mediu și aproape 600.000 de genomuri de izolate. Studiile animale sau *O Singură Sănătate* au inclus 90–592 de probe și, în proiectele cu eșantionare la nivel de unitate de producție, 38–538 de ferme sau efective. În mediu, dimensiunea a variat de la nouă compartimente prelevate în trei stații de epurare la 757 de probe de ape uzate din 243 de orașe și 101 țări. Caracteristicile individuale sunt prezentate în tabelul 1.

Supravegherea în populații umane

Într-o secție de medicină generală de tip open-plan, cu mai multe paturi amplasate în spații comune, din Myanmar, 59 de pacienți adulți au fost evaluați, iar un sub-eșantion reprezentativ de 24 de probe rectale a fost analizat prin secvențiere shotgun; au fost asamblate 453 de gene RAM. Studiul a arătat că dispersia rezistomului poate fi urmărită într-un mediu clinic cu resurse limitate, însă asemănarea genelor între pacienți nu poate stabili de sine stătător direcția transmiterii [6].

Mobilitatea populației a fost evaluată într-o cohortă prospectivă de 190 de călători olandezi, cu 380 de probe de materii fecale pereche înainte și după călătorie. Au fost identificate 56 de gene de rezistență la antimicrobiene (GRA) unice dobândite după călătorie, iar destinația călătoriei a explicat o parte importantă a modificării rezistomului. Designul de pereche a redus variabilitatea inter-individuală și

a demonstrat utilitatea eșantionării „înainte și după” pentru supravegherea importului de GRA [7].

Un studiu exploratoriu desfășurat în Cambodgia, Kenya și Regatul Unit a conectat 490 de metagenomi fecali comunitari cu date independente de la 4463 de izolate de Enterobacterales din sânge sau lichid cefalorahidian. Această integrare a permis compararea rezervorului comunitar de gene cu profilurile observate în infecțiile invazive și a ilustrat rolul WGS și/sau antibiogramelor ca strat de validare a semnalului metagenomic [8]. La scară globală, Diebold și colaboratorii au analizat 14850 de metagenomi intestinali umani, 1666 de metagenomi de mediu și aproape 600000 de genomuri de izolate, constatând că genele relevante clinic sunt concentrate într-un număr relativ limitat de taxoni [4].

Supravegherea sănătății animale și abordarea *O Singură Sănătate*

În 38 de ferme porcine din Spania, 467 de probe agregate fecale, de mediu și de dejecții au generat 105 metagenomi, analiza fiind corelată cu utilizarea antimicrobienei și tipul sistemului de producție. Rezultatele au arătat că structura și abundența rezistomului au fost asociate cu sistemul de producție, tipul probei și consumul de antimicrobiene la nivelul fermei, evidențiind necesitatea corelării datelor metagenomice cu informațiile privind utilizarea antimicrobienei [9].

Eșantionarea conectată (prelevarea coordonată a probelor din compartimente care aparțineau aceluiași sistem epidemiologic și aceluiași lanț de producție) a oamenilor, păsărilor, solului și carcaselor a fost aplicată în China în două cicluri de producție, totalizând 137 de probe. Studiul a urmărit asemănările la nivel de comunitate și tulpină, fără a echivala similaritatea cu transmiterea demonstrată [10]. Un proiect mai amplu a analizat 461 de microbiomuri din zece ferme avicole și patru abatoare, în trei provincii și pe parcursul a 2,5 ani; au fost descrise 233 de GRA de bază și 145 de GRA potențial mobile. Designul studiului „de-a lungul lanțului de producție” a permis localizarea etapelor în care profilurile de rezistență converg sau se separă [11].

În Ghana au fost analizate 90 de probe de la porci și păsări din sisteme rurale și urbane, ceea ce a permis comparații între specii și tipuri de producție [12]. La nivel european, 538 de efective de porci, pui de carne, viței, curcani și păstrăv curcubeu din nouă țări au fost examinate printr-o metodologie armonizată, oferind o bază pentru compararea rezistomului între specii și state [3]. În China, 592 de probe din sectoarele uman, alimentar sau animal și de mediu au fost integrate cu izolarea bacteriilor rezistente; au fost identificate 40 de tipuri și 743 de subtipuri de gene RAM, iar conexiunile regionale au fost evaluate prin contexte genomice și gazde potențiale [13].

Supravegherea rezistenței la antimicrobiene în ape uzate și alte probe de mediu

Studiile de ape uzate au oferit cele mai extinse eșantioane geografice. Prima demonstrație globală a inclus ape uzate urbane neepurate din 79 de locații, 74 de orașe și 60 de țări [1]. Extinderea ulterioară la 757 de probe din 243 de orașe și 101 țări a consolidat posibilitatea comparării internaționale, dar a arătat și dependența rezultatelor de infrastructură, geografie și

standardizarea fluxului analitic [2].

La scară urbană, 20 de locații de coastă și ape uzate din jurul orașului Montevideo au evidențiat rezervoare comune și diferențe determinate de impactul antropic [14]. În trei stații de epurare din Hong Kong, nouă compartimente (influent, nămol activ și effluent) au fost analizate prin tehnologiile: Oxford Nanopore și Illumina. Citirile lungi au permis legarea fizică a GRA de plasmide și gazde, depășind o limită majoră a citirilor scurte [15].

În cinci stații de epurare de pe mai multe continente, zece metagenomi pereche influent – nămol activ au fost analizați prin citiri lungi. Abundența totală a GRA s-a redus cu 75–90%, însă structura asocierilor cu elemente genetice mobile s-a modificat, ceea ce arată că scăderea cantității nu echivalează

automat cu reducerea riscului de mobilizare [16]. Re-analiza a 677 de metagenomi de ape uzate din 97 de țări sau regiuni a confirmat utilitatea indicatorilor de mobilom pentru prioritizarea genelor cu potențial de diseminare [17].

Monitorizarea longitudinală, realizată prin prelevări săptămânale timp de doi ani în șapte stații de epurare din cinci orașe europene, a evidențiat variații sezoniere și comunități microbiene asociate probabil surselor umane și de mediu, oferind un model pentru supravegherea atribuibilă sursei [18]. Cea mai recentă analiză standardizată a inclus 226 de probe de nămol activ din 142 de stații de epurare de pe șase continente și a identificat un nucleu de 20 de GRA prezent în toate stațiile, susținând dezvoltarea unor indicatori globali comuni [19].

Tabelul 1. Caracteristicile cantitative ale studiilor incluse în reviu

Nr. crt.	Autorul	Țara	Anul	Scopul	Tipul studiului	Criteriile de eligibilitate	Eșantion	Sursa
1	Ashokan A. et al.	Myanmar	2021	Evaluarea dispersiei rezistomului într-un salon spitalicesc deschis.	Transversal; shotgun metagenomics.	Pacienți adulți internați în salonul studiat; probe rectale cu ADN adecvat; sub-eșantion reprezentativ pentru secvențiere.	59 pacienți evaluați; 24 metagenomi; 453 gene RAM asamblate.	[6]
2	D'Souza A.W. et al.	Țările de Jos; destinații internaționale	2021	Măsurarea achiziției de GRA asociate călătoriei.	Cohortă prospectivă cu probe pereche.	Călători cu probe fecale înainte și după călătorie și metadata complete.	190 participanți; 380 probe; 56 GRA unice dobândite.	[7]
3	Auguet O.T. et al.	Cambodgia, Kenya, Regatul Unit	2021	Corelarea rezistomului comunitar cu RAM în izolate Enterobacterales invazive.	Studiu ecologic exploratoriu, multisursă.	Metagenomi fecali comunitari de calitate și izolate invazive cu date fenotipice / genomice din aceleași țări.	490 persoane; 4.463 izolate din sânge / LCR.	[8]
4	Diebold P.J. et al.	Global, 33 țări	2023	Atribuirea genelor RAM relevante clinic taxonilor intestinali la scară globală.	Re-analiză bioinformatică globală.	Metagenomi și genomuri publice cu metadata geografice și criterii de calitate.	14.850 metagenomi umani; 1.666 de mediu; cca. 600.000 genomuri de izolate.	[4]
5	Mencía-Ares O. et al.	Spania	2020	Evaluarea efectului utilizării antimicrobiene și al sistemului de producție asupra rezistomului porcin.	Transversal, ferme; metagenomică shotgun.	Ferme cu date privind utilizarea antimicrobiene; probe agregate fecale, de mediu și dejecții care au trecut controlul calității.	467 probe; 105 metagenomi; 38 ferme porcine.	[9]
6	Maciel-Guerra A. et al.	China	2023	Caracterizarea comunităților și rezistomurilor conectate între oameni, sol și păsări.	O Singură Sănătate, două cicluri de producție.	Lucrători și gospodării conectate, păsări, carcase și sol; probe cu ADN suficient și metadata de legătură.	137 probe din compartimente umane, animale și de mediu.	[10]

7	Baker M. et al.	China	2023	Identificarea profilurilor RAM comune de-a lungul lanțului fermă–abator.	Longitudinal, comparativ; metagenomică și machine learning.	Ferme și abatoare din trei provincii; probe de păsări, carcase și mediu cu secvențe de calitate.	461 microbiomuri; 10 ferme; 4 abatoare; 2,5 ani.	[11]
8	Jensen E.E.B. et al.	Ghana	2023	Compararea rezistomurilor la porci și păsări în sisteme rurale și urbane.	Transversal, comparativ.	Probe de la animale din unități rurale / urbane, cu ADN și profunzime adecvate; date europene comparabile.	90 probe: 30 porcine și 60 aviare.	[12]
9	Munk P. et al.	9 țări europene	2024	Descrierea rezistomului zootehnic european în mai multe specii.	Supraveghere multicentrică, transversală.	Probe fecale agregate standardizate de la efective de animale sănătoase, cu metadate de fermă și utilizare a antimicrobienelelor.	538 efective: porci, broileri, viței, curcani, păstrăv.	[3]
10	Feng Y. et al.	China	2025	Estimarea fluxului regional de gene RAM între sectoarele O Singură Sănătate.	Multisectorial, transversal; metagenomică și izolare / WGS.	Probe umane, alimentare / animale și de mediu din regiuni conectate; metagenomi și izolate care au trecut QC.	592 probe; 40 tipuri și 743 subtipuri de gene RAM.	[13]
11	Hendriksen R.S. et al.	60 țări	2019	Testarea supravegherii globale a RAM prin ape uzate urbane.	Ecologic, multicentric global.	Ape uzate urbane neepurate, prelevate și procesate prin protocol armonizat; AND / metagenomi de calitate.	79 locații; 74 orașe; 60 țări; >1,4 Tb secvențe.	[1]
12	Fresia P. et al.	Uruguay	2019	Identificarea rezervoarelor RAM în ape de plajă și ape uzate urbane.	Ecologic urban, transversal.	Locații de coastă și canalizare reprezentând grade diferite de impact antropic; probe cu ADN suficient.	20 locații / probe în zona metropolitană Montevideo.	[14]
13	Che Y. et al.	Hong Kong, China	2019	Rezolvarea rezistomului mobil în compartimentele stațiilor de epurare.	Comparativ; long-read ONT și Illumina.	Influent, nămol activ și efluent din trei stații; material suficient pentru secvențiere hibridă și validare.	9 compartimente / probe: 3 tipuri × 3 stații.	[15]
14	Munk P. et al.	101 țări	2022	Cartografierea peisajului global al RAM în apele uzate.	Supraveghere globală multicentrică.	Ape uzate neepurate cu metadate valide de oraș/țară și secvențe care au trecut controlul calității.	757 probe; 243 orașe; 101 țări; 2016–2019.	[2]

15	Dai D. et al.	SUA, Suedia, Elveția, China, India	2022	Evaluarea schimbării asocierilor GRA – elemente mobile de la influent la nămol activ.	Comparativ pereche, long-read.	Probe pereche influent–nămol activ din cinci stații; ADN de calitate pentru citiri lungi.	10 metagenomi; 5 stații; reducere GRA 75–90%.	[16]
16	Johansson M.H.K. et al.	97 țări sau regiuni	2023	Estimarea rolului elementelor genetice mobile în diseminarea globală a GRA.	Re-analiză globală a metagenomilor publici.	Metagenomi de ape uzate cu metadate geografice și rezultate comparabile după QC.	677 metagenomi de ape uzate.	[17]
17	Becsei Á. et al.	5 orașe europene	2024	Separarea semnalului sezonier, uman și de mediu pentru supraveghere atribuibilă sursei.	Serie temporală longitudinală.	Influent neepurat prelevat săptămânal; puncte temporale care au trecut controlul secvențierii.	7 stații; prelevare săptămânală timp de 2 ani.	[18]
18	Zhu C. et al.	Global, 6 continente	2025	Definirea diversității globale și a unui nucleu comun de GRA în stațiile de epurare.	Studiu global standardizat, transversal.	Nămol activ municipal prelevat, secvențiat și analizat prin același protocol și flux bioinformatic	226 probe; 142 stații; 20 GRA prezente în toate stațiile.	[19]

Notă: Studiile sunt grupate după domeniul de supraveghere — uman, animal sau O Singură Sănătate și mediu — și ordonate cronologic în interiorul fiecărui grup. Numerele dintre paranteze pătrate corespund ordinii citării în manuscris.

Abrevieri: GRA – gene de rezistență la antimicrobiene; LCR – lichid cefalorahidian; ONT – Oxford Nanopore Technologies; QC – controlul calității; RAM – rezistență la antimicrobiene; WGS – secvențierea întregului genom.

Discuții

Principala constatare a reviuului este că valoarea epidemiologică a secvențierii metagenomice depinde mai mult de designul supravegherii decât de volumul datelor generate. Rezultatele trebuie interpretate în raport cu unitatea analizată. Probele individuale descriu rezistomul unei persoane sau al unui animal, în timp ce probele agregate din ferme, efective ori ape uzate caracterizează o colectivitate. În consecință, detectarea unei gene într-o probă agregată nu permite estimarea directă a prevalenței individuale. Predominanța studiilor de mediu (8 din 18 arată că apele uzate sunt, în prezent, matricea cea mai utilizată pentru comparații populaționale. Numărul mai mic de studii umane (4 din 18) și de proiecte cu eșantionare coordonată între sectoare, limitează însă inferențele privind sursa și transmiterea. Înainte de secvențiere trebuie să fie stabilit indicatorul urmărit: detectarea unui determinant prioritar, modificarea abundenței în timp, compararea între localități sau investigarea unei posibile legături între sectoare.

Studiile longitudinale și cele cu probe pereche au oferit informații mai utile privind dobândirea, persistența și variația genelor de rezistență decât investigațiile transversale. Pentru identificarea tendințelor sunt necesare puncte stabile de prelevare, frecvență constantă și metode analitice comparabile. Interpretarea trebuie corelată cu date privind utilizarea

antimicrobienele, expunerea, sistemul de producție, biosecuritatea, populația deservită și condițiile de mediu. În lipsa acestor informații, diferențele dintre rezistomuri rămân predominant descriptive. Predominanța tipurilor de studii transversale (12 din 18) explică de ce majoritatea rezultatelor oferă o imagine de moment. Exemplele cu probe înainte și după călătorie, cu eșantionare de-a lungul lanțului fermă–abator și cu serii săptămânale de ape uzate arată că repetarea măsurătorilor permite separarea mai bună a variației reale de fluctuația de moment [7, 11, 18]. Pentru interpretare sunt utile metadate, colectate în același format: consumul de antimicrobiene, structura populației deservite, debitul și diluția apelor uzate, precipitațiile, sistemul de producție, măsurile de biosecuritate și evenimentele epidemiologice. În supravegherea de rutină, o serie temporală consecventă este, de regulă, mai informativă decât o singură analiză cu profunzime foarte mare.

Comparabilitatea este influențată și de metoda de normalizare, profunzimea secvențierii, baza de date și pragurile utilizate pentru identificarea genelor. De aceea, actualizarea programelor sau a bazelor de date trebuie documentată și evaluată înainte de compararea rezultatelor noi cu cele anterioare. Citirile lungi și asamblarea hibridă pot îmbunătăți atribuirea genelor de rezistență elementelor genetice mobile și microorganismelor-gazdă, dar aceste asocieri necesită

controlul calității și validare independentă [15-17]. Un program operațional trebuie să includă controale negative și pozitive, criterii minime pentru calitatea secvențierii. La actualizarea bazei de date, o parte dintre probele istorice trebuie reanalizate pentru a verifica dacă tendința observată este biologică și nu rezultatul schimbării algoritmului. Pentru prioritizarea riscului, numărul total de gene este insuficient; trebuie analizate împreună abundența, persistența, relevanța clinică și asocierea cu elemente genetice mobile.

Identificarea aceiași gene în probe umane, animale și de mediu indică o posibilă conexiune între rezistomuri, dar nu demonstrează transmiterea. O asemenea concluzie necesită probe prelevate în perioade și locații corelate, analiza contextului genomic și rezoluție la nivel de tulpină. Pentru determinanții prioritari, metagenomica trebuie completată prin cultură, secvențierea întregului genom și antibiogramă [8, 10, 13]. De asemenea, semnalul metagenomic poate proveni de la bacterii viabile, bacterii moarte sau ADN extracelular; prin urmare, detectarea unei gene nu demonstrează exprimarea fenotipică. Un flux integrat poate fi organizat în trei etape: screening metagenomic larg, confirmarea determinanților prioritari prin metode țintite și investigarea epidemiologică a legăturilor. Această ierarhie reduce riscul de a interpreta drept transmitere simplă similitudine a genelor și permite concentrarea resurselor asupra semnalelor persistente sau cu impact clinic.

În Republica Moldova, supravegherea genomică a apelor uzate a fost explorată într-un studiu în care 23 de probe colectate la stația de epurare din Chișinău, în perioada septembrie–noiembrie 2024, au fost analizate prin secvențiere Illumina pentru identificarea liniilor genetice SARS-CoV-2. Acoperirea genomică limitată a evidențiat necesitatea optimizării extracției ARN și a fluxului analitic. Deși studiul nu a evaluat genele de rezistență sau rezistomul, această experiență poate servi drept precedent operațional local pentru extinderea viitoare a supravegherii apelor uzate către analiza metagenomică a RAM [20].

În același timp, publicațiile realizate de colective din Republica Moldova au documentat aplicabilitatea secvențierii metagenomice în diagnosticul RAM și au discutat rolul acesteia în supravegherea integrată [21, 22]. Experiența națională de monitorizare genomică a SARS-CoV-2 în probe clinice a inclus 71 de probe colectate între decembrie 2023 și august 2024 și a descris zece clade și 18 linii genetice, indicând existența unei capacități locale de procesare, analiză și interpretare a datelor genomice [23]. Alte lucrări locale au sintetizat aplicațiile metagenomicii în diagnosticul infecțiilor și examinarea biosubstratelor clinice, subliniind rolul său complementar față de cultură și testele microbiologice standard [24, 25]. Împreună, aceste experiențe nu reprezintă încă un sistem național de supraveghere metagenomică a RAM, dar oferă componente utile pentru dezvoltarea lui: personal instruit, fluxuri de laborator, analiză bioinformatică și colaborare clinică.

Participarea Republicii Moldova la investigația EURGen-Net privind răspândirea transfrontalieră a unei plasmide

mozaic care asocia determinantul de rezistență OXA-48 cu genele de virulență pentru aerobactină este, de asemenea, relevantă. În analiză au fost incluse secvențe provenite de la 29 de izolate de *Klebsiella pneumoniae* din Republica Moldova; 28 aparțineau tipului de secvență ST395 și unul tipului ST23, iar markerul oligonucleotidic specific plasmidei investigate nu a fost identificat în aceste izolate [26]. Rezultatul nu exclude circulația altor plasmide sau determinanți de rezistență, dar arată că datele produse în țară pot fi integrate în rețele genomice internaționale și comparate prin criterii comune. Pentru supravegherea RAM, această capacitate este importantă deoarece semnalele metagenomice privind rezistomul trebuie corelate cu genomurile izolatelor și cu datele epidemiologice transfrontaliere.

Prin urmare, supravegherea metagenomică trebuie orientată spre identificarea genelor relevante clinic, a creșterilor persistente și a asocierilor cu elemente genetice mobile. Metagenomica extinde capacitatea de detectare și de generare a ipotezelor, dar nu înlocuiește metodele microbiologice necesare pentru confirmarea viabilității, gazdei și fenotipului de rezistență. Metagenomica poate funcționa ca instrument de avertizare timpurie și de orientare a investigațiilor, iar cultura, antibiograma și WGS rămân metodele de confirmare.

Limitări

Reviul este narativ și a utilizat o căutare bibliografică structurată și nu reprezintă o revizuire sistematică exhaustivă. Selecția a fost limitată la publicații cu acces integral și DOI, ceea ce poate favoriza revistele open access. Nu a fost aplicat un instrument formal de evaluare a riscului de bias pentru fiecare tip de studiu și nu s-a realizat meta-analiză din cauza eterogenității unităților de eșantionare, platformelor, bazelor de date, normalizării și indicatorilor. Studiile privind apele uzate sunt mai numeroase decât celelalte, iar cercetările în care probele umane, animale și de mediu sunt colectate coordonat, în aceeași perioadă, rămân puține.

Concluzii

1. Secvențierea metagenomică reprezintă un instrument promițător pentru supravegherea rezistenței la antimicrobiene în cadrul abordării O Singură Sănătate, permițând caracterizarea rezistomului la oameni, animale și în mediu. Aplicarea eficientă a acestei metode necesită standardizarea etapelor de prelevare, procesare și analiză a probelor.

2. Secvențierea cu citiri scurte este adecvată pentru monitorizarea și compararea rezistomului la scară largă, în timp ce secvențierea cu citiri lungi și asamblarea hibridă oferă informații suplimentare privind asocierea genelor de rezistență cu elementele genetice mobile și microorganismele-gazdă.

3. Evaluarea circulației genelor de rezistență între oameni, animale și mediu necesită o eșantionare coordonată și integrarea datelor epidemiologice, microbiologice și genomice, deoarece identificarea unor gene similare în diferite compartimente nu demonstrează, în mod direct, transmiterea

acestora între sectoare.

4. Apele uzate reprezintă un compartiment-cheie pentru supravegherea populațională a rezistenței la antimicrobiene, oferind posibilitatea monitorizării tendințelor locale și globale, precum și a identificării genelor cu potențial de diseminare.

5. Comparabilitatea rezultatelor între studii și laboratoare

necesită utilizarea unor fluxuri bioinformatic standardizate și documentate, iar determinanții de rezistență prioritari trebuie confirmați, după caz, prin cultură microbiologică, testarea sensibilității la antimicrobiene și secvențierea întregului genom.

Bibliografie

- Hendriksen RS, Munk P, Njage PMK, van Bunnik B, McNally L, Lukjancenko O, et al. Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nat Commun.* 2019;10:1124. doi:10.1038/s41467-019-08853-3
- Munk P, Brinch C, Møller FD, Petersen TN, Hendriksen RS, Seyfarth AM, et al. Genomic analysis of sewage from 101 countries reveals global landscape of antimicrobial resistance. *Nat Commun.* 2022;13:7251. doi:10.1038/s41467-022-34312-7
- Munk P, Yang D, Röder T, Maier L, Petersen TN, Duarte ASR, et al. The European livestock resistome. *mSystems.* 2024;9:e01328-23. doi:10.1128/msystems.01328-23
- Diebold PJ, Rhee MW, Shi Q, Trung NV, Umrani F, Ahmed S, et al. Clinically relevant antibiotic resistance genes are linked to a limited set of taxa within gut microbiome worldwide. *Nat Commun.* 2023;14:7366. doi:10.1038/s41467-023-42998-6
- Baethge C, Goldbeck-Wood S, Mertens S. SANRA—a scale for the quality assessment of narrative review articles. *Res Integr Peer Rev.* 2019;4:5. doi:10.1186/s41073-019-0064-8
- Ashokan A, Hanson J, Aung NM, Kyi MM, Taylor SL, Choo JM, et al. Investigating potential transmission of antimicrobial resistance in an open-plan hospital ward: a cross-sectional metagenomic study of resistome dispersion in a lower middle-income setting. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2021;10:56. doi:10.1186/s13756-021-00915-w
- D'Souza AW, Boolchandani M, Patel S, Galazzo G, van Hattem JM, Arcilla MS, et al. Destination shapes antibiotic resistance gene acquisitions, abundance increases, and diversity changes in Dutch travelers. *Genome Med.* 2021;13:79. doi:10.1186/s13073-021-00893-z
- Auguet OT, Niehus R, Gweon HS, Berkley JA, Waichungo J, Njim T, et al. Population-level faecal metagenomic profiling as a tool to predict antimicrobial resistance in Enterobacteriales isolates causing invasive infections: an exploratory study across Cambodia, Kenya, and the UK. *EClinicalMedicine.* 2021;36:100910. doi:10.1016/j.eclinm.2021.100910
- Mencia-Ares O, Cabrera-Rubio R, Cobo-Díaz JF, Álvarez-Ordóñez A, Gómez-García M, Puente H, et al. Antimicrobial use and production system shape the fecal, environmental, and slurry resistomes of pig farms. *Microbiome.* 2020;8:164. doi:10.1186/s40168-020-00941-7
- Maciel-Guerra A, Baker M, Hu Y, Wang W, Zhang X, Rong J, et al. Dissecting microbial communities and resistomes for interconnected humans, soil, and livestock. *ISME J.* 2023;17:21-35. doi:10.1038/s41396-022-01315-7
- Baker M, Zhang X, Maciel-Guerra A, Dong Y, Wang W, Hu Y, et al. Machine learning and metagenomics reveal shared antimicrobial resistance profiles across multiple chicken farms and abattoirs in China. *Nat Food.* 2023;4:707-720. doi:10.1038/s43016-023-00814-w
- Jensen EEB, Sedor V, Eshun E, Njage P, Otani S, Aarestrup FM. The resistomes of rural and urban pigs and poultry in Ghana. *mSystems.* 2023;8:e00629-23. doi:10.1128/msystems.00629-23
- Feng Y, Lu X, Zhao J, Li H, Xu J, Li Z, et al. Regional antimicrobial resistance gene flow among the One Health sectors in China. *Microbiome.* 2025;13:3. doi:10.1186/s40168-024-01983-x
- Fresia P, Antelo V, Salazar C, Giménez M, D'Alessandro B, Afshinnkoo E, et al. Urban metagenomics uncover antibiotic resistance reservoirs in coastal beach and sewage waters. *Microbiome.* 2019;7:35. doi:10.1186/s40168-019-0648-z
- Che Y, Xia Y, Liu L, Li AD, Yang Y, Zhang T. Mobile antibiotic resistome in wastewater treatment plants revealed by Nanopore metagenomic sequencing. *Microbiome.* 2019;7:44. doi:10.1186/s40168-019-0663-0
- Dai D, Brown C, Bürgmann H, Larsson DGJ, Nambi I, Zhang T, et al. Long-read metagenomic sequencing reveals shifts in associations of antibiotic resistance genes with mobile genetic elements from sewage to activated sludge. *Microbiome.* 2022;10:20. doi:10.1186/s40168-021-01216-5
- Johansson MHK, Aarestrup FM, Petersen TN. Importance of mobile genetic elements for dissemination of antimicrobial resistance in metagenomic sewage samples across the world. *PLoS One.* 2023;18(10):e0293169. doi:10.1371/journal.pone.0293169
- Becsei Á, Fuschi A, Otani S, Kant R, Weinstein I, Alba P, et al. Time-series sewage metagenomics distinguishes seasonal, human-derived and environmental microbial communities potentially allowing source-attributed surveillance. *Nat Commun.* 2024;15:7551. doi:10.1038/s41467-024-51957-8
- Zhu C, Wu L, Ning D, Tian R, Gao S, Zhang B, et al. Global diversity and distribution of antibiotic resistance genes in human wastewater treatment systems. *Nat Commun.* 2025;16:4006. doi:10.1038/s41467-025-59019-3

20. Colac S, Sitnic V, Burduniuc O. Genomic surveillance of wastewater for SARS-CoV-2 detection in the Republic of Moldova. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2024;83(4):214-219. doi:10.54044/RAMI.2024.04.02
21. Burduniuc O, Lupu M, Bucov V, Țapu L, Anton M, Colac S. Secvențierea metagenomică în diagnosticul rezistenței la antimicrobiene. *Akademios.* 2024;2(73):84-90. doi:10.52673/18570461.24.2-73.08
22. Țapu L, Colac S, Anton M, Lupu M, Burduniuc O, Bucov V. Unele aspecte de utilizare a tehnologiilor metagenomice: diagnosticul infecțiilor și supravegherea rezistenței la antimicrobiene. In: *Patrimoniul cultural de ieri - implicații în dezvoltarea societății durabile de mâine*. Vol. 8. Iași-Chișinău-Lviv; 2024:565-569. doi:10.5281/zenodo.13761721
23. Colac S, Sitnic V, Burduniuc O. Genomic monitoring of SARS-CoV-2 variants in the Republic of Moldova. *Arta Medica.* 2025;94(1):11-16. doi:10.5281/zenodo.15879875
24. Burlac V, Burduniuc O, Colac S, Iaconi OS, Bucov V, Lupu M, et al. Metagenomics sequencing in infection diagnosis: clinical applications. *One Health Journal.* 2025;3(5):5-12. doi:10.31073/onehealthjournal2025-V-01
25. Bucov V, Lupu M, Colac S, Burlac V, Petcoglo N. Utilizarea metodei de secvențiere metagenomică în examinarea biosubstratelor clinice (review-ul literaturii). *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 2025;1(103):33-39. doi:10.52556/2587-3873.2025.1(103).05
26. Linkevicius M, Alm E, Roer L, Svartström O, Dada-Olorunwa M, Räisänen K, et al. Cross-border spread of a mosaic resistance (OXA-48) and virulence (aerobactin) plasmid in *Klebsiella pneumoniae*: a European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network investigation, Europe, February 2019 to October 2024. *Euro Surveill.* 2025;30(27):2500439. doi:10.2807/1560-7917.ES.2025.30.27.2500439

Recepționat – 01.08.2026, **Acceptat pentru publicare** – 23.08.2026

Autor corespondent: Livia Țapu, livia.țapu@ansp.gov.md

Declarația de conflict de interese: Autorii declară că nu există conflicte de interese financiare sau nefinanciare relevante pentru acest articol.

Declarația de finanțare: Articolul a fost elaborat în cadrul subprogramului de cercetare „Supravegherea rezistenței la antimicrobiene în biosubstrate umane și elemente de mediu bazată pe tehnologia metagenomică”, cod 130103, Programul instituțional de cercetare al Agenției Naționale pentru Sănătate Publică, 2024–2027. Autorii declară că nu au existat alte surse de finanțare pentru acest manuscris.

Declarația de etică: Reviul nu a implicat recrutarea de participanți sau utilizarea de date individuale. Subprogramul „Supravegherea rezistenței la antimicrobiene în biosubstrate umane și elemente de mediu bazată pe tehnologia metagenomică” a primit aviz favorabil din partea Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” — Aviz nr. 7 din 10 octombrie 2025.

Declarație privind utilizarea instrumentelor de inteligență artificială: Autorii au utilizat ChatGPT, dezvoltat de OpenAI, pentru verificarea lingvistică și traducerea textului în limba engleză. Conținutul științific, selecția datelor, interpretările și concluziile au fost realizate, verificate și asumate integral de autori.

Contribuția autorilor: Livia Țapu – conceptualizare, metodologie, căutare bibliografică, curarea datelor, analiză formală, redactarea versiunii inițiale, vizualizare; Svetlana Colac – metodologie, validare, revizuire critică; Veronica Burlac – căutare bibliografică, curarea datelor, validare, revizuire critică; Olga Burduniuc – conceptualizare, supervizare, validare, administrarea proiectului, revizuire critică.

Toți autorii au aprobat versiunea finală a manuscrisului și își asumă responsabilitatea pentru acuratețea și integritatea conținutului.

Citare: Țapu L, Colac S, Burlac V, Burduniuc O. Secvențierea metagenomică în supravegherea integrată a rezistenței la antimicrobiene [Metagenomic sequencing in integrated antimicrobial resistance surveillance]. *Arta Medica.* 2026;100(3):e2026304. doi: 10.5281/zenodo.22070145