



Universitatea
Transilvania
din Braşov

Universitatea *Transilvania* din Braşov

TEZĂ DE ABILITARE

IMPACTUL INFECȚIILOR ACUTE LA POPULAȚIA PEDIATRICĂ

Domeniul: MEDICINĂ

Autor: FALUP-PECURARIU OANA GABRIELA

Universitatea Transilvania din Braşov

BRAȘOV, 2021

CUPRINS

LISTA DE ABREVIERI.....	4
(A) Summary.....	5
(B) Realizări științifice și profesionale și planuri de evoluție și dezvoltare a carierei..	9
(B-i) Realizări științifice și profesionale.....	10
Capitolul I. Principalul domeniu de cercetare – dezvoltare și rezultate.....	11
I.1. Introducere.....	11
I.2. Colonizarea si portajul nazofaringian.....	18
I.3. Portajul pneumococic și microbiota.....	23
I.4. Otita acută medie și pneumococul.....	32
Capitolul II. Evoluție și realizări profesionale.....	83
II.1 Aree de interes științific în infecțiile acute la copii.....	83
II.1.a. Cercetarea legată de infecția gripală, vaccinare și politici de vaccinare anti gripală.....	83
II.1.b. Patologia determinată de Stafilococ la copii.....	92
II.1.c. Rezistența la antibiotice în cadrul infecțiilor de tract urinar.....	106
II.1.d. Markerii de inflamație în patologia oncologică.....	111
II.1.e. Patologia digestivă și implicațiile pentru practica curentă.....	114
II.1.f. Terapiile imunomodulatoare la copii.....	116

Capitolul III. Evoluție și realizări academice.....	123
(B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei.....	124
1. Plan de dezvoltare a carierei profesionale.....	125
2. Plan de dezvoltare al activității didactice.....	126
3. Plan de dezvoltare a activității științifice.....	127
(B-iii) Bibliografie.....	129

LISTA DE ABREVIERI

ADN	Acid dezoxiribonucleic
BTS	British Thoracic Society
CAP	Community acquired pneumonia
CMI	Concentrație minimă inhibitoare
COX	Ciclooxygenaza
CRP	Proteina C reactivă
DS	Deviația standard
HCP	Healthcare personnel
IACRS	Infecție de căi respiratorii superioare
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ITU	Infecție de tract urinar
LBA	Lavaj bronhoalveolar
LCR	Lichidul cefalorahidian
mARN	ARN mesager
MDR	Multiple drug resistant
MRSA	Stafilococ auriu metilino rezistent
OMA	Otită medie acută
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
PCV7	Vaccin pneumococic conjugat
PHiD-CV	Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine
PIDJ	Pediatric Infectious Diseases Journal
PIDS	Pediatric Infectious Diseases Society
Pneumococ	Streptococcus pneumoniae
PVL	Panton-valentine leukocidin
RMN	Rezonanță magnetică nucleară
RSV	Virus respirator sincițial
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
S. aureus	Staphylococcus aureus/Stafilococ aureus

(A) Summary

Until the present moment my whole career has been mainly focusing on children's infectious diseases and their impact on the health of pediatric population. In strict correlation with this I have been studying for several years the antibiotic resistance due to various etiological agents in my region. I started my personal scientific work with pneumococcus. The primary focus was to demonstrate the carriage of pneumococcus in pediatric disease. The main findings at that particular time were the high carriage rates along with the high resistance rate to the mostly used antibiotic. As a natural forward step was the etiology of acute otitis media at children under 5 years of age and the next published papers were directly linked towards demonstrating that the presence of pneumococcus in the nose is strictly linked to that in the lungs and the impact of vaccination on the mucosal diseases determined by *Streptococcus pneumoniae*. In parallel to being part of the European CAP-PRI group that was studying community acquired pneumonia, we have published a position paper regarding the similarities and discrepancies between different published guidelines and the European approach. Moreover, we have published papers regarding community acquired pneumonia, its radiological findings and the particularities of the European pediatric population and also the different vaccination policies among European countries. In this strict line my common work with the European centers has determined the publishing of an important paper addressing the issue of severe pneumonia due to *Staphylococcus aureus* and the presence or absence of the PVL gene. During this thesis I have approached the subject of this particular article. In the strict line of treatment and its challenges we have published a collaborative network study regarding the use of different types of medication to prevent the recurrences of upper respiratory tract infection.

There is a whole published English literature regarding the role of viruses in paving the way towards severe infection including pneumonia due to pneumococcus. We have been part of an European network at which we studied the different types of acting of healthcare workers towards vaccination against influenza. Romania is a country in which the level of knowledge and acceptance on flu vaccination is still very low compared to other countries. We have also studied the drivers to vaccination against flu. From all the published articles we have understood that here in Romania, there is a great need to promote vaccination and also to educate from a very young age about the beneficial outcomes of vaccination.

In line with the need to better understand the reservoir of the bacterial agents in our region and due to the fact that Romania had in 2016 an outbreak of Hemolytic uremic syndrome cases (HUS) we published the first study regarding the presence of Shiga like

toxins in our region and the high prevalence of these agents in the Brasov area. We have shown that we may presume we may have constant small outbreaks of HUS.

Working with infants and toddlers is also highlighting not only the existence of different urinary tract infections but also malformations. Moving a step further on we have shown that at a very young age the most frequently encountered bacterial agents for urinary tract infections are highly resistant to most used antibiotic regimens. Therefore we had to implement at a local level a new protocol to start treatment at this very young age.

Looking forward to a more severe pathology and also, at least for Romania, data were scarce at children, osteomyelitis and acute arthritis I was part of the first ESPID guideline for the two diseases in which we have discussed different approaches in regard of clinical and therapeutic management.

The impact of antithermic prescription after immunization we have also published and an article in which we have shown that there is no need to prescribe paracetamol after immunization and also that prescribing it may lower the immunological response. The study was a multicenter randomized trial and the studied groups had a very well-defined randomization.

Inflammation markers and the border line between infectious and noninfectious etiology at oncological patients was also a subject of interest in direct line with all the other published papers.

My published review papers were in line with all my research activity. The presentations that I sustained all over Europe and in my own country at different Conferences and Congresses reflected my whole activity and research. In regard with my community involvement I was the President of ProImunizarea and had talks regarding the importance of correct immunization. Giving presentations at high schools in Brasov at which we presented the importance of getting immunized for a wide range of diseases like HPV, meningococcal, flu and hepatitis A was one of my teaching objectives regarding the young ones.

At the Children's Hospital Brasov, we invited foreign professors to talk about infectious diseases and also about the importance of vaccines in public health. For over 13 years I am the organizer of an ESPID supported teaching course that gathers the most prominent speakers on infectious diseases from the whole world and it is a well-known teaching course for Romanian Pediatricians. For the last 5 years we have been organizing winter schools that is addressed mainly to the young generation of residents of

various specialities. We try to make all these meetings even in these challenging times very interesting and interactive.

**(B) Realizări științifice și
profesionale și planuri
de evoluție și dezvoltare
a carierei**

(B-i) Realizări științifice și profesionale

Capitolul 1. Principalul domeniu de cercetare-dezvoltare și rezultate

I.1. Introducere

Streptococcus pneumoniae (Pneumococul) este un bacil Gram pozitiv care colonizează 27-65% dintre copii și până la 10% dintre adulți. El este un germene oportunist care colonizează nazofaringele umane (1).

Există trei căi principale prin care microorganismul poate acționa: diseminare locală, aspirare sau diseminare hematogenă.

Principalele afecțiuni pe care le produce pneumococul sunt reprezentate de otita medie, pneumonie, septicemie și meningită. El reprezintă una dintre principalele cauze de morbiditate la nivel global.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) menționa pneumococul în anul 2017, ca fiind una dintre principalele 12 cauze de morbiditate la nivel global. Această notificare venea după ce se analizase rezistența înaltă la antibiotice a pneumococului, alături de imensa sa capacitate genetică de a se remodela, de a se transforma dintr-o stare comensală într-una patogenă (2). Până de curând tot ceea ce se cunoștea legat de transmiterea pneumococului era faptul că el se transmite de la un purtător la celălalt sau de la purtători la cei naivi, în mod special în lunile mai reci ale anului sau în lunile mai uscate (3). Ulterior s-a demonstrat faptul că contactul apropiat și vârsta mică sunt factorii care favorizează transmiterea pneumococului.

Structura pneumococului este atent studiată și cercetată, însă rămân multiple întrebări legate de structura lui moleculară și mai ales de procesele biologice ale acestuia (4). Sinteza de proteine are loc la nivelul periferiei nucleoidului, o regiune extrem de bogată în ADN și în complexe proteice largi (5).

Pneumococul este o bacterie care fermentează carbohidrații la acid lactic (6) în scopul producerii de energie și, mai mult, este capabil de fermentație mixtă atunci când etanolul și acetatul sunt formați prin producere, în plus față de acidul lactic (7). Datorită faptului că trăiește la nivelul tractului respirator, pneumococul a trebuit să se adapteze cerințelor mediului în care se dezvoltă și se multiplică în scopul colonizării gazdei sale. Este chiar posibil să metabolizeze părți din substanțele pe care le consumă gazda sa, atunci când colonizează nazofaringele (7).

Procesul de sinteză este extrem de complex, antrenând multiple mecanisme, inclusiv

holoenzime responsabile de ARN mesager (mARN), dar și sintetaze specific (8). La rândul său, proteina care se formează necesită procese complexe, printre care menționăm chaperozomii, TIGR4. DnaK este un chaperzom de șoc (9). DnaK cooperează formând o adevărată rețea de supraviețuire cu Tig, în ajutorul care îl oferă noii proteine de a părăsi ribozomii (10).

Deoarece trăiește la nivelul epiteliului respirator, unde sursa de carbohidrați este foarte săracă, pneumococul trebuie să găsească metode de adaptare și de hrană. Sursele lui principale sunt reprezentate de către carbohidrații de suprafață, exprimați de către celula gazdă, componente din mucus, glicoproteinele din mediul unde trăiește (11). La nivel pulmonar pneumococul va distruge și prelua depozitele de glicogen de la nivelul celulelor alveolare, după care invadează epiteliul pulmonar. Dar aceste celule de tip II sunt și cele care sintetizează surfactantul (12).

Structura peretelui celular este extrem de complexă și rezistă degradării antibioticelor, dar mai ales a diferitelor tipuri de hidrolaze care ar putea să o distrugă. Principalele funcții ale peretelui celular al pneumococului sunt reprezentate de: menținerea formei celulei, protejarea celulei de distrugerea internă, ancorarea pneumococului prin proteinele de suprafață și capsula polizaharidică (13).

Mutațiile în proteinele responsabile de polimerizarea peretelui, proteinele care leagă penicilina contribuie de fapt la creșterea rezistenței la antibiotice (14). Peptidoglicanul este principalul component al peretelui celular al pneumococului (15). Poate cea mai importantă caracteristică a pneumococului este posibilitatea transformării sale (16). Nu numai că poate evada, dar poate integra în interiorul genomului propriu informația și așa să determine apariția de noi serotipuri capsulare (17). Numai celulele componente capabile să determine apariția de transformazomi pot avea această capacitate de transformare (16). Sunt multe gene care sunt implicate în acest proces complex de transformare.

Un ultim element care este implicat în colonizare și invazia bacteriană este reprezentat de pili pneumococici (18). Pneumococul este capabil de a exprima două tipuri de pili, de tip 1 și 2. Pili de tip 1 sunt întâlniți în aproximativ 30% dintre cazuri și tipul 2 numai în anumite serotipuri emergente (19).

Un lucru extrem de interesant de remarcat este coinfectia cu virusul gripal A. Această coinfectie a fost studiată și s-a demonstrat că infecția cu gripa A va stimula producția de mucus și de glicoproteine (20). Acest lucru, alături de vârsta mică, permit de fapt cu adevărat răspândirea pneumococului. Mai mult, nivelele de excreție se corelează cu extinderea inflamației căilor respiratorii superioare. Scăderea receptorilor Toll 2 din cadrul

infecției virale, asociată cu creșterea cantității de particule virale și un răspuns inflamator mai mare, sunt cele care de fapt determină o mai mare transmitere a pneumococului (21). Pe perioada copilăriei există o rinoree abundentă, ceea ce reprezintă o situație ideală pentru diseminarea pneumococului (22). Pneumolizina pneumococică este cea care are efecte proinflamatorii certe, iar inflamația pe care o determină va accentua clearance-ul de mucus (23). În animalele de experiență a fost dovedit că supresarea efectului pneumolizinei va determina de fapt o reducere a transmisiunii de pneumococ (24). Pneumolizina este primul factor de care pneumococul are nevoie, pentru a se putea transmite.

Studiile epidemiologice, pe de altă parte au demonstrat că există o mare diversitate legată de serotipurile pneumococului, în vreme ce capsula și tipul de transmitere au fost studiate pe animalele de experiență (25). Datele recente au sugerat cu cât capsula este mai subțire, cu atât transmiterea pneumococului este mai îngreunată. Încapsularea, pe de altă parte, permite o supraviețuire mai bună și o mai bună transmitere.

Capsula pneumococică este cea care este țintită de către toate vaccinurile pneumococice care se găsesc pe piață. Cu toate acestea, sunt puține studii care au evaluat proteina de suprafață pneumococică PspA și familiile de pili PI-1 și PI2 (26). Studiile care au fost centrate pe aceste elemente au dus la constatări extrem de interesante care par a deschide noi căi de cercetare. PspA fam 2 este familia care predomină în marea majoritate a lumii, în vreme ce fam 1 este întâlnită mai ales în Australia dar și în Marea Britanie, iar fam 3 este extrem de rar întâlnită (27). În cadrul PspA fam1, cele mai comune serotipuri sunt 6B și 6C/D. Pentru PspA fam 2 există o mai mare diversitate, dar se întâlnește frecvent 15B/C, alături de serotipurile 14, 17F, 16F. Mai mult, rezistența la antibiotice pare a fi mai ales legată de fam1, comparativ cu celelalte familii studiate, în vreme ce izolatele din cadrul Fam 2 au cea mai mică rezistență la antibiotice.

Supraviețuirea în afara mediului uzual, care este nazofaringele, este un aspect foarte important. Transmiterea prin secreții de la purtători se poate realiza prin contactul direct persoană-persoană dar și prin contaminarea suprafețelor. În cazul animalelor de experiență cușca este cea care a reprezentat dovada de transmitere (24). La om studiile au dovedit faptul că jucăriile pot să fie colonizate de către purtătorul sănătos (28). În condițiile unui mediu propice, pneumococul poate supraviețui pe suprafețe timp de zile (29). Dacă sunt condiții de mediu neprielnice, acesta poate supraviețui prin exprimarea pneumolizinei timp de câteva zile. Succesul colonizării pneumococice depinde și de condițiile de mediu și de aici preferința lui pentru anumite situsuri.

Condițiile de mediu necesare portajului nazofaringian

În nazofaringe temperatura este de aproximativ 33 de grade Celsius, este relativ constantă și mai ales condițiile de umidifiere sunt optime, ceea ce face ca acest loc să fie o nișă de colonizare perfectă. Temperatura corpului uman este de 37 de grade, în vreme ce temperatura de la nivelul plămânilor este variabilă, funcție de aerul respirat, dar se menține în jurul valorii de 37 de grade Celsius (30).

În cursul coinfecțiilor cu RSV (virus respirator sincițial) dar mai ales cu virusul gripal, această temperatură se modifică, la fel și concentrația de oxigen de la acest nivel. Pneumococci din biofilme au nivele reduse de oxigen (31). Intrarea pneumococilor în tractul respirator inferior dar și la nivelul urechii medii este expusă la condiții microaerofilice (32), în vreme ce la nivelul lichidului cefalorahidian (LCR) și la nivel pulmonar condițiile sunt diferite, fiind aproape anaerobe (33).

Există diferențe majore de comportament în condiții de mediu ale diferitelor serotipuri ale pneumococului. Serotipurile 2, 4, 13, 23B, 35B și 38 cresc mult mai bine în mediu îmbogățit cu catalază față de condițiile anaerobe, în comparație cu serotipurile 6B, 8, 9N, 12F, 22F și 42 care cresc mult bine în ambele tipuri de mediu (34). Culturile au crescut însă cel mai bine în condițiile în care temperatura era similară celei din nazofaringe și anume în jur de 30 de grade, atât din punct de vedere al densității coloniilor, cât și al calității acestor colonii. În condițiile în care însă sunt invadate țesuturile învecinate, atunci apar variații mari de temperatură, la care, pneumococii trebuie să se adapteze (35). Aici însă intervine și formarea de mucus, care va facilita această dispersie (36). Nivelurile de oxigen vor fi și ele modificate, fiind scăzute cu o tremie, ceea ce va determina penetrarea pneumococică la nivelul urechii medii (32). La rândul ei, capsula pneumococică oferă condiții optime de supraviețuire prin activarea glicanilor.

Biofilmul pneumococic

Biofilmul pneumococic joacă aici un rol deosebit de important. Pneumococul, prin biofilmul pe care îl formează, supraviețuiește în stare sesilă, aderând la epiteliul respirator, stare complet diferită de cea planctonică. Aceasta din urmă se întâlnește mult mai des în condițiile de septicemie și de meningită (37). În cavitatea nazofaringiană ciclul reproductiv al pneumococului încetinește, iar exprimarea factorilor de virulență este mult încetinită. Astfel, acesta va determina formarea de biofilme, care încorporează părți de acid dezoxiribonucleic (ADN) extracelular, proteine, lipide și polizaharide, care toate împreună, facilitează transmiterea.

Conform definiției biofilmelor, acestea sunt comunități de bacterii care sunt încapsulate într-o matrice extra-capsulară. Sunt extrem de multe bacterii care competiționează pentru nazofaringe și în nazofaringe. Biofilmele create de pneumococ se desfășoară în stadii succesive cu ajutorul CbpA, PcpA, PspA (38). Matricea matură este formată din ADN extracelular și este cea care va determina atașarea pneumococului de suprafață (39). Competența genetică este realizată, pe de altă parte, de către CSP și este reglată de autolizina, fiind dependentă de serotip.

Pneumococul este una dintre cele mai active organisme, acest lucru îi conferă și posibilitatea de a supraviețui în biofilme (40). Ca și imagine, biofilmul pneumococic arată ca un fagure de miere având canale de apă și matrice extracelulară. Mecanismul de supraviețuire la nivelul nazofaringelui impune pneumococului să treacă obligatoriu prin următoarele etape: atașarea, creșterea și detașarea cu găsirea unei noi zone/nișe unde ar putea să se dezvolte și să se reproducă în continuare (41).

Se presupune că portajul este precedat de existența biofilmelor de pneumococ. Pe de altă parte, se cunoaște că peste 65% dintre îmbolnăviri se datorează biofilmelor. Portajul este asimptomatic, însă facilitează transmiterea și infecția (42). Dezvoltarea și creșterea pneumococilor în interiorul biofilmelor le asigură în mod cert diversitatea genetică (43). De asemenea, morfologia diferită a coloniilor le va permite și o aderare crescută de suprafață, precum și mai departe posibilitatea de a fi rezistent la stress-ul oxidativ, dar și la antibiotice.

În interiorul nazofaringelui există puține surse de glucoză, extrem de necesară pentru creșterea și dezvoltarea pneumococului (44). Prin urmare, dezvoltarea și supraviețuirea lui în cadrul unui biofilm, îi va oferi oportunitatea de a supraviețui acele lanțuri care se pot hrăni cu ajutorul substratului de carbon. Deși biofilmul îi este necesar pentru colonizare pneumococului, el își va păstra toate caracteristicile de invazivitate prin gena RpoE din cadrul acestuia.

Portajul se datorează existenței biofilmelor de pneumococ, lucru dovedit de studiile in vitro pe animalele de experiență. Acestea au demonstrat formarea de colonii distincte în decursul diferitelor zile de cultivare, dar mai mult, au dovedit existența unui schimb de informație genetică (45).

Biofilmele utilizează mecanisme complexe de comunicare și dintre acestea cele mai importante sunt reprezentate de: moleculele de semnalizare Quorum, peptidele stimulative ale competenței, oferta de colină, aportul de fier de la nivel celular, proteinele structurale și co-factorii necesari acestora, dintre care cei mai importanți sunt cuprul, magneziul, manganul și zincul (46). Acesta din urmă este un element fundamental pentru pneumococ,

pe care îl va procura de la nivelul mediului extracelular. Acest lucru este dovedit de lanțurile mutante, care nu au gene capabile să preia și să prelucreze zincul, iar acestea sunt lipsite de virulență (47).

Există și alte beneficii ale biofilmelor: oxigenul fiind limitat, rata metabolică este mult redusă, protecție imediată față de factorii externi care, cu toții pot afecta supraviețuirea pneumococului, protecția împotriva antibioticelor, dar și a factorilor imuni, protecția împotriva surfactantului și în plus pneumococii pot comunica între ei în cadrul biofilmelor ca într-o comunitate, transferându-și și coordonându-și mecanismele de protecție de la acest nivel (48). În plus, la nivelul biofilmelor de pneumococ studiile arată că există posibilitatea comunicării și transformării coloniilor în interiorul acestora. La sfârșitul a trei zile în interiorul unui biofilm ia naștere o colonie complet nouă, cu calități diferite față de cele existente (49). Acest fapt demonstrează nu numai abilitatea pneumococului de a supraviețui într-un mediu aparent ostil, dar mai ales posibilitatea lui de a se reproduce. Manganul și cuprul în biofilmele pneumococice nu permite dezvoltarea acestora (50).

Dacă privim perspectiva clinică legată de biofilm știm că până la 43.8% dintre copiii thailandezi de exemplu vor fi co-colonizați în vreme ce 40% dintre cei spanioli, vor purta la rândul lor cel puțin două serotipuri diferite de pneumococ în nas (51).

Traducerea in vitro a acestor afirmații este reprezentată de mecanismul de Quorum sensum Lux S/AI2 și sistemul Com care participă în mod activ la formarea de biofilme la nivelul nazofaringelui uman. Aceste mecanisme cresc șansele de a coloniza nazofaringele și densitatea coloniilor de pneumococ, dar și numărul de serotipuri posibile (52).

Când se studiază biofilmele pe plăci, se poate observa că sunt capabile să determine apariția de bacteriocine care să determine distrugerea și supresarea oricăror agenți considerați primejdioși față de biofilm (53). Mai mult, biofilmele care apar în cursul hipertermiei sunt mult mai agresive comparativ cu cele care se dezvoltă la temperaturile uzuale (54). Datele clinice și epidemiologice stipulează că pentru a crește virulența este necesară implicarea virală (55). Studiile recente au dovedit, cel puțin la copii, că infecția virală crește de 15 ori capacitatea de a determina boala invazivă la pneumococ.

Afecțiunea virală, în speță, gripa, va determina din perspectiva pneumococului, creșterea invazivității sale, alături de imunosupresie și de reducerea implicită a clearance-ului mucociliar (56). Poate de aceea, problema portajului și a biofilmului pneumococic nu este cu adevărat elucidată în era vaccinării PCV 10 și PCV 13. Nici PPV 23 nu a reușit să își demonstreze eficacitatea în ceea ce privește portajul nazofaringian și nici biofilmul (57).

Vaccinul înlocuiește coloniile cu serotipuri vaccinale, cu altele non vaccinale, care sunt considerate a fi cu potențial mai redus de a determina boala. O acțiune similară au și antibioticele, acestea determinând selectarea unor subtipuri multi-rezistente pe de altă parte.

Există similitudini surprinzătoare între coloniile din biofilmele produse din S23F, S19F și S6B și cele din boala pneumococică invazivă. Astfel, in vitro se atinge un prag maxim de la care va apare diviziunea biofilmelor pentru a exista în continuare (58). In vivo, expresia acestui lucru este co-colonizarea cu un serotip vaccinal și unul non vaccinal. În plus, la copii se știe că co-colonizatorul are o putere mai mare de a produce boala față de celălalt serotip. In vitro se demonstrează și mai ușor această dominanță a anumitor serotipuri în comparație cu altele (59). În interiorul biofilmelor, pe de altă parte, există o și mai mare delimitare legată de dominanța lanțurilor pneumococice și se poate vedea clar funcție de densitatea coloniilor că serotipurile 23 F și 19F domină în biofilmele create. În cadrul acestora s-a dovedit de asemenea faptul că diferitele serotipuri sunt în contact (60).

I.2. Colonizarea si portajul nazofaringian

Într-un studiu din Iran care a înrolat 317 copii din 4 creșe/grădinițe diferite, s-a demonstrat o rată medie de portaj de 24%, însă ceea ce a fost extrem de interesant a fost că nu toate centrele au avut o rată de colonizare similară. Unul dintre centre a dovedit o rată mai mare de colonizare, în vreme ce unul a demonstrat o rată mai mare de rezistență la antibiotic (61).

Dacă mergem mai departe la nivelul tractului respirator inferior la copii, există din ce în ce mai multe studii care vorbesc despre persistența biofilmelor în cadrul bronșitelor recurente. Dacă analizăm cultură versus lavaj bronhoalveolar (LBA), vom vedea că există o dovadă certă a existenței biofilmelor la acele nivele. În plus, există dovezi ale existenței pneumococilor la nivelul bronhiilor și bronșioloalelor (62).

Date din literatură sugerează rata scăderii portajului nazofaringian la copiii evrei vs beduini, 74% vs 43% în primul an de urmărire post vaccin PCV 13 valent. Pe măsură ce testele devin mai performante și mai complexe, numărul de serotipuri se restrânge, rămând doar cele mai agresive (63).

Pornind de la toate aceste date Dagan et al. a demonstrat de fapt importanța vaccinării înainte de primul episod de otită medie. Dacă pacientul nu este vaccinat și face otită medie, atunci riscul de otită recurentă crește proportional datorita formării biofilmelor (64).

O problema încă și mai interesantă este cea a microbiotei nazale și a portajului pneumococic. Dagan și colab. publicau un studiu legat de portajul nazofaringian la cele două populații de copii, respectiv beduini și evrei, în care acopereau o perioada de 10 ani, (1997-2007) în perioada prevaccinală. Ei au estimat cohorta populațională înainte de vaccinare conform datelor zonei respective. Estimarea lor a fost că la vârsta de 6 luni populația de copii evrei va avea un portaj de 34.8% în vreme ce populația beduină va avea o rată estimată de portaj de 70.3%.

Au fost studiate în 1997 de exudate nazale provenite de la aceste două populații de studiu, în vreme ce recoltarea de exudate s-a efectuat la 2, 4, 6, 7, 12, 13 luni. Una dintre principalele concluzii ale studiului a fost aceea că vârsta mică care include toate vaccinările prezintă un model relativ similar al achizițiilor de serotipuri. Acest lucru are prin urmare o importanță majoră pentru implementarea de vaccinuri noi în schemele naționale (65).

Un studiu similar publicat de către Devine și colab. din Marea Britanie care au

analizat un număr de 2267 de exudate nazale între 223 și 399/an, rezultând un număr de 669 pneumococi care inițial reprezentau 53.4% din portaj, arată pe cele două perioade de vaccinare inițial cu PCV 7 și mai apoi cu PCV 13 un model similar de achiziție ca cel menționat anterior (66).

Un studiu al portajului efectuat în Uganda de către Nackers et al. arată un portaj similar cu cel al zonei Brașov înainte de începerea vaccinării. În Uganda însă vaccinarea cu PCV -10 acoperea abia 38% dintre cei la care se efectuase determinarea de portaj nazal. Acest procent varia funcție de vârsta participanților la studiu (67).

În anul 2011 apărea în *Pediatric Infectious Disease Journal* articolul Falup Pecurariu O. și colab. legat de portajul nazofaringian la copiii din județul Brașov (68).

La data respectivului studiu existau numai două studii legate de rezistența la antibiotice a pneumococului în România (69).

Ceea ce aducea nou studiul nostru, primele date de portaj publicate pe populație sănătoasă, dar și rezistența la antibiotic la data respectivă, precum și importanța introducerii pe schema Națională de imunizare a vaccinului pneumococic conjugat. Scopul acestui studiu a fost evaluarea fenotipurilor de multirezistență la antibiotic și identificarea serotipurilor de *Streptococcus pneumoniae* izolate din culturi obținute din exudat nazofaringian, de la 4 grupuri de copii (centre de îngrijire – grădinițe/creșe, centre comunitare de vaccinare, Unitatea de Primiri Urgențe și Secția de Chirurgie din cadrul Spitalului Clinic de Copii Brașov), în orașul Brașov, România.

În studiul nostru ne-am concentrat pe rezistența la antibiotice, precum și pe acoperirea vaccinală cu vaccin pneumococic conjugat 7 valent (existent la data respectivă pe piața din România, dar nu și pe schema Națională de imunizare). La data efectuării studiului populația Brașovului era de aproximativ 400000 de locuitori și Spitalul Clinic de Copii era și încă este singurul spital de copii din regiune care acoperă principalele specialități medicale pediatrice și ramuri chirurgicale.

Din Aprilie 2008 până în 31 Ianuarie 2009 am efectuat exudate nazale la 100 de copii cu vârsta între 2-5 ani, care frecventau 6 grădinițe din Brașov. În România marea majoritate a copiilor cu vârsta de sub 2 ani stau acasă, fiind îngrijiți de către familie. Au mai fost incluși în studiu 100 de copii din cabinetele medicilor de familie care se prezentau la aceștia pentru efectuarea vaccinurilor, 100 de copii sub 5 ani care se prezentau la departamentul de primire urgență pentru alte afecțiuni decât cele respiratorii, 100 de copii sănătoși care urmau să fie operați pentru afecțiuni chirurgicale precum hernia, apendicita, sau alte proceduri.

Exudatele nazale au fost recoltate conform procedurilor în vigoare de recoltare și transportate pe mediu special MW 173AMIES. Culturile de pneumococ care au fost cultivate au fost apoi depozitate la -70 de grade Celsius. Acestea au fost apoi trimise în Israel la Beer Sheva, pentru serotipare și cultivare. Toate cele 52 de serotipuri de 23F au fost mai departe studiate pentru rezistența la antibiotice.

Per total au fost înrolați 400 de copii cu vârsta de sub 5 ani din cele patru centre de studii anterior menționate.

Tabel 1 Date legate de colonizarea diferitelor grupe de vârstă pentru 400 de sugari și copii din 4 centre (*după Falup-Pecurariu O, Bleotu L, Zavarache C, Peled N, Anton O, Robu M, Falup-Pecurariu C, Rogozea L, Porat N, Greenberg D, Dagan R, Leibovitz E. Streptococcus pneumoniae nasopharyngeal colonization in children in Brasov, Central Romania: high antibiotic resistance and coverage by conjugate vaccines. Pediatr Infect Dis J. 2011 Jan;30(1):76-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181f42bb6*)

TABLE 1. Colonization Data on Various Age Group Among 400 Infants and Children Enrolled at 4 Sampling Centers

Age (mo)	Daycare Center (n = 100)	Elective Surgery (n = 100)	Immunization Clinics (n = 100)	Emergency Room (n = 100)	Total (n = 400)
<12	1/2 (50)*	9/18 (50)	53/90 (59)	7/8 (88)	70/118 (59)
13-24	11/11 (100)	12/17 (71)	6/7 (86)	3/9 (33)	32/44 (73)
≤24	12/13 (92)	21/35 (60)	59/97 (61)	10/17 (59)	102/162 (63)
25-36	13/16 (82)	5/17 (29)	0/0	4/18 (22)	22/51 (43)
37-48	33/35 (94)	7/23 (30)	2/2 (100)	14/37 (38)	56/97 (58)
49-60	13/36 (36)	5/25 (20)	1/1	6/28 (21)	25/90 (28)
Total colonized	71 [†]	38 [†]	62	34 [†]	205/400 (51)

*In parentheses: % colonized of all patients of same age.

[†]P < 0.001.

Media de vârstă a fost de 31.4 ± 19 luni, cei mai mici fiind cei care au fost consultați la medicii de familie, având o vârstă medie de 9.4 ± 8.2 luni, iar cei mai în vârstă au avut o medie de 42.5 ± 13.2 luni. 40.5% dintre copii au avut o vârstă de sub 2 ani, în timp ce 15% au primit antibiotic cu 48 de ore înainte de a fi înrolați în studiu și 24% în ultima lună înainte de a fi înrolați în analiză.

La 85% dintre pacienți au existat date legate de tipul de antibiotic utilizat.

Tabel 2 - Variația rezistenței la antibiotice pentru serotipurile *S. pneumoniae* (după Falup-Pecurariu O, Bleotu L, Zavarache C, Peled N, Anton O, Robu M, Falup-Pecurariu C, Rogozea L, Porat N, Greenberg D, Dagan R, Leibovitz E. *Streptococcus pneumoniae nasopharyngeal colonization in children in Brasov, Central Romania: high antibiotic resistance and coverage by conjugate vaccines. Pediatr Infect Dis J. 2011 Jan;30(1):76-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181f42bb6*)

TABLE 2. Resistance Patterns to Various Antibiotics According to *S. pneumoniae* Serotypes

Serotype	No. Isolates	PEN	TMP/SMX	ERY	CLIN	TETR	CHL	CRO
6A	16	15/16 (94) 0/16*	13/16 (81)	15/16 (94)	15/16 (94)	15/16 (94)	0/16	0/16
6B	31	29/31 (94) 18/31 (58)*	28/31 (90)	27/31 (87)	28/31 (90)	24/31 (77)	0/31	0/31
11A	6	3/6 (50) 0/6*	2/6 (33)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
14	20	20/20 (100) 9/20 (45)*	20/20 (100)	6/20 (30)	6/20 (30)	5/20 (25)	0/20	0/20
19A	11	11/11 (100) 0/11*	11/11 (100)	6/11 (55)	6/11 (55)	6/11 (55)	0/11	0/11
19F	26	24/26 (92) 16/26 (62)*	24/26 (92)	23/29 (79)	11/26 (42)	23/26 (88)	0/26	0/26
23F	52	48/52 (92) 35/52 (67)*	46/52 (88)	41/52 (79)	41/52 (79)	12/52 (23)	0/52	33/52 (63)

In parentheses: % of all isolates.
 *High penicillin resistance (MIC [mtequ] 2.0 μg/mL).
 PEN indicates penicillin; TMP/SMX, trimetoprim/sulfamethoxazole; ERY, erythromycin; CLIN, clindamycin; TETR, tetracycline; CHL, chloramphenicol; CRO, ceftriaxone.

Amoxicilina a fost utilizată la 24% dintre pacienți, augmentin respectiv amoxicilina cu clavulanat la 23%, claritromicina la 16% dintre pacienții luați în studiu.

Rata de colonizare a fost de 51%, adică 204 pacienți din 400 au fost colonizați cu pneumococ. Serotipurile cele mai frecvent întâlnite au fost în ordine descrescătoare 23F, 6B, 19F, 14, în timp ce 64% dintre pneumococci au fost MDR- multiple drug resistant. Pneumococcal conjugate vaccine (PCV-7) acoperă la data respectivului studiu 66% dintre serotipuri, iar acoperirea vaccinală oferită de PCV-7 și de către PCV-10 era similară, în vreme ce acoperirea vaccinală oferită de către PCV-13 era de 80%. A existat o rată de 89% de rezistență la penicilină și de 16% față de ceftriaxon, în timp ce 40.5% și 16% dintre izolate erau înalt rezistente la aceste două antibiotice. La 67% dintre tulpini se descria la acea dată rezistență la peste trei clase de antibiotic, în vreme ce la 43% dintre ele se certifica rezistență la 5 clase de antibiotice.

Cele mai mari rezistențe la antibiotic se descriu pentru serotipurile 6A,6B,14, 19A, 19F, 23 F. Rezistența înaltă la penicilină se descria pentru serotipurile 6B, 14, 19F și 23F. Interesant nici 6A nici 19A nu era înalt rezistent la penicilină. Serotipurile 23F era în schimb cu rezistență înaltă la ceftriaxon.

Dintre cele 41 de serotipuri non vaccinale izolate 23(56%), 15(37%) și 3(7%) au fost susceptibil, intermediar și înalt rezistente la penicilină. Dintre cele 52 de tulpini izolate de 23F doar 8% au fost sensibile la penicilină. Dintre cele 48 de tulpini izolate nonsusceptibile la penicilină 73% erau înalt rezistente. Dintre acestea, 63% erau rezistente la ceftriaxon. Toate tulpinile izolatele erau însă susceptibile la chinolonele testate. Dintre izolatele de 23F, 94% erau rezistente la peste 3 clase de antibiotic în vreme ce 54% erau rezistente la peste 5 clase de antibiotice.

Rezultatele studiului nostru nu erau la data respectivă complet neașteptate având în vedere studiile premergătoare desfășurate la Iași în anii 1990.

Ratele de portaj nazofaringian la populația studiată de către noi au fost mari la cei cu vârsta de sub 2 ani și la cei care mergeau la creșă. Principalele serotipuri întâlnite au fost 23F, 6B, 19F, 14, dar și 6A și 19A. Dacă primele se regăseau în PCV 7 următoarele se regăseau în PCV13.

Acoperirea vaccinală cu PCV-7 a fost mai mică în studiul nostru și ar putea fi parțial explicată prin vârsta mai mare a copiilor înrolați în acest studiu. La fel acoperirea vaccinală cu PCV 10 care la rândul ei a fost scăzută nu trebuie să ridice prea mari semne de întrebare întrucât serotipurile 1,5 și 7F sunt extrem de rar întâlnite în colonizarea nazofaringiană.

Ceea ce este însă demn de a fi remarcat este că, acest studiu atrăgea atenția asupra unei mari rezistențe la antibiotice în cadrul populației pediatrice. În studiul nostru 83% dintre tulpinile izolate erau rezistente la penicilină și 18% erau rezistente la ceftriaxon, respectiv 40.5% și 16% erau înalt rezistente.

Rezistența la eritromicină, TMP/SMX, tetraciclină și clindamicină erau de asemenea înalte, în timp ce rezistența la peste trei clase de antibiotice era extrem de mare 67%, respectiv pentru cinci clase de antibiotice era de 43%. Majoritatea serotipurilor 6A, 6B, 14, 19A, 19F, 23 F erau rezistente la penicilină în vreme ce rezistență înaltă la ceftriaxon a fost întâlnită doar la 23F. Dintre cele 52 de izolate de 23F marea majoritate au demonstrat valori extrem de înalte de concentrație minimă inhibitorie (CMI) la penicilină și ceftriaxon. Rezistența la ≥ 3 clase de antibiotice (MDR) s-a observat la 138/205 (67%) dintre tulpinile izolate, iar rezistența ≥ 5 clase de antibiotice s-a observat în 88/205 (43%) dintre tulpinile izolate. PCV7 și PCV10 a acoperit 110/138 (80%) dintre tulpinile MDR. Când s-a adăugat serotipul similar? 6A, 123/138 (89%) dintre tulpinile MDR au fost acoperite de către PCV7 și PCV10. 93% (129/138) Dintre tulpinile MDR izolate au fost acoperite de PCV13.

La data studiului nu au fost efectuate studii de genotipare, dar rezultatele studiului nostru ridicau problema transmiterii de rezistență a lanțurilor de pneumococi în cadrul comunității.

I.3. Portajul pneumococic și microbiota

Există o rețea de legături interbacteriene în cadrul nazofaringelui dinamice în decursul timpului (70). Plămânii sunt colonizați de bacterii, iar acest lucru este dovedit de către pacienții cu fibroza chistică (71). Genul *Streptococcus* se găsește în cantități mari la nivelul mucoasei gingivale, palatului și bucal, în timp ce speciile de *Prevotella* se găsesc în cantități importante la nivelul amigdalelor și a gâtului (72). Cele mai stabile microbiote le au sugarii care au ca un prim colonizator genul *Moraxella* și care sunt de fapt stabile de-a lungul timpului, inclusiv după vaccinare. Cele mai mari variații le au însă cei care sunt colonizați cu *Streptococcus*, *Prevotella* și *Bacteroides* (73).

Bradileone și colab. demonstrează într-un studiu efectuat pe un număr de 910 copii că factorul cel mai important în colonizare și stabilirea microbiotei nazale îl are creșea și fratriile, cele care determină de fapt și numărul de îmbolnăviri. Mai mult, autorii au sugerat că în funcție de tipul de alimentație naturală sau artificială se va modela și tipul de colonizare. Ei au demonstrat că aceasta începe extrem de timpuriu și poate fi deja catalogată începând cu 1.5 luni de viață (74).

Există trei jucători majori în microbiota nazală - pneumococul, stafilococul și *Haemophilus influenzae*, între aceștia se dispută imunitatea celulară și umorală, microbiomul și imunitatea înăscută. Atât pneumococul cât și stafilococul au proprietăți bactericide (75).

După vaccinarea antipneumococică se vor detecta mai multe colonii de stafilococ, deoarece nișa lăsată liberă de pneumococ va trebui ocupată de alte colonii, cel puțin la fel de virulente. Pentru acest lucru sunt responsabili, după vaccinarea cu PCV, doi factori: carotenoizii și răspunsul imun al gazdei, care prin reactivitate încrucișată la un moment dat va putea opri colonizarea nișei cu stafilococ. O confirmare indirectă a acestei afirmații vine din studiile la copiii HIV pozitivi care poartă un număr similar de colonii de stafilococ și de pneumococ post vaccinare (76).

Haemophilus-ul competiționează spațial pentru propria lui supraviețuire, ceea ce invariabil va determina distrugerea lanțurilor de pneumococi cu ajutorul peptidoglicanilor, care prin stimularea neutrofilelor vor distruge pneumococii.

Pneumococul are ca și armă de apărare proprie neuraminidaza, care prin clivajul acidului sialic va determina interacțiunea cu *H.influenzae* și a *N.meningitidis*.

Speciile de *Prevotella* stimulează creșterea și dezvoltarea pneumococilor, în vreme ce speciile de *Corynebacterium* inhibă creșterea acestora (77).

Modelele de portaj pneumococic uman au demonstrat că existența acestora la nivelul microbiotei este dependentă de celelalte specii. Mai mult, o colonizare de succes a pneumococului este direct legată de încărcătura virală.

În continuare discutăm despre încărcătura microbiană din timpul infecțiilor acute de tract respirator superior și a otitelor medii acute. Este dovedit faptul că *Moraxella* este în număr mai mare decât alte specii în microbiotă la copii cu infecții acute de tract respirator și otită medie.

În studiul lui Allemann și colab. care a cuprins o perioadă îndelungată de observație înainte de PCV7, în timpul acestuia, înainte de PCV 13 și în timpul și după aceasta, portajul era mare sub 1 an și între 2-4 ani pentru toate tipurile de vaccin (78). Pentru otitele medii acute acest lucru era valabil numai pentru vârsta de sub 1an, nu și pentru celelalte categorii de vârste implicate.

Datele actuale sugerează că vaccinarea cu PCV 13 va determina colonizarea cu alte tipuri non vaccinale, dintre care se distinge cu ușurință 12F, care pare a fi și cel mai virulent.

Alte dovezi au fost publicate în studiile de lavaj bronhoalveolar ale copiilor cu boală pulmonară cronică. Așa cum menționam mai înainte, multă vreme s-a considerat că plămânul nu este colonizat deloc și că este steril (79).

La vârsta de 2 ani, după o schemă de vaccinare completă cu PCV 7, copiii studiați din perspectiva portajului nazofaringian demonstau că sunt colonizați cu lanțuri non vaccinale, dar că în interiorul nasurilor lor se găseau și specii de *Stafilococ* și de *H.influenzae*.

Mai mult, studiile au dovedit că flora care coloniza nazofarinea la vârsta de un an era diferită de cea de la vârsta de 2 ani (80).

Impactul diferitelor scheme de vaccinare 2+1 sau 3+1 asupra colonizării și microbiotei a fost demonstrată de Dagan și colab. în numeroasele sale studii de portaj în Israel. Acestea au dovedit dispariția completă a serotipurilor vaccinale cu selectarea unor subtipuri non vaccinale (81). Poate cel mai discutat serotip a fost 19A.

În studiul nostru pe populația nevaccinată din Brașov, am dovedit că el cunoaște un trend secular. Însă pe populația vaccinată el a fost selectat ca o tulpină extrem de agresivă, ceea ce a determinat introducerea sa în vaccinul 13 valent.

Este evidentă scăderea serotipurilor vaccinale din vaccinul 13 valent dar și creșterea unora non vaccinale. Acest lucru este valabil și pentru vaccinul PCV 10 care, acolo unde a fost introdus, a selectat tulpini non vaccinale, dintre care 19A reprezintă principala amenințare.

În era PCV 13 se selectează ca și principali agresori, serotipurile 11, 15 și 23 alături de câteva alte serotipuri, al căror loc și rol rămâne de stabilit. Faezel și colab. au dovedit complexitatea rețelei de microorganisme într-un studiu cu PCV 10, în care demonstra impactul acestui vaccin pe microbiotă și indirect demonstra de fapt selectarea de serotipuri agresive, care însă sunt conținute în PCV 13 (82).

Am putea concluziona că există o microbiotă nazală care se schimbă mereu până ajunge la compoziția celei a unui adult. Relația acesteia cu vaccinurile este extrem de complexă și necesită investigații ulterioare.

Din perspectivă locală studiul nostru deschidea calea cercetării pneumococului în regiunea Brașov și pune în evidență rezistența mare la antibiotice în zona noastră.

În anul 2007 Belgia introduce vaccinarea PCV7 în schema 2+1 iar în 2011 decide în favoarea PCV13 în cadrul aceleași scheme de 2+1, după care se decide schimbarea PCV 13 cu PCV10.

Acoperirea vaccinală ajunge foarte repede la peste 80%. Au fost studiate exudate nazofaringiene recoltate de la 2883 de copii care frecventau grădinițe, creșe cu program prelungit, corespunzând unui număr de 2661 de izolate pneumococice.

Interesant e faptul că după implementarea vaccinării s-a observat un trend descendent în cazurile de otită medie acută și de utilizare a antibioticelor. Foarte puțini copii nu erau purtători (3.8%).

5.7% dintre exudate au fost obținute de la aceiași copii în perioade diferite de timp însă.

Caracteristicile loturilor de studiu au rămas însă similare în decursul timpului. Este interesant de observat trendul descendent al otitei medii acute în această perioadă de timp, alături de scăderea evidentă a consumului de antibiotic. Strategia studiului de a include copii cu media de vârstă de 20.4 luni în perioada anului 2016 față de 18.4 luni în perioada anului 2017-2018, a făcut ca un număr important de copii să fi primit PCV13, fiind într-o ușoară descreștere de 2.7% și, o creștere a ponderii numărului de copii vaccinați cu PCV 10.

Prevalența portajului a fost mare în perioada de studiu considerată și anume de 75.6% în 2016-2017 și de 80% în 2016. De asemenea, portajul de *H.influenzae* a fost crescut, în vreme ce co-colonizarea a fost relativ frecventă, dar mai mult decât atât, stabilă de-a lungul întregii perioade de studiu considerate. În studiul de regresie s-a observat că rata de portaj mare de pneumococ s-a corelat cel mai adesea cu sexul feminin, creșă/grădiniță, prezența mai multor frați în casă, simptomele de răceală din cadrul familiei, dar și ale pacientului, în vreme ce portajul de stafilococ, utilizarea de antibiotice în ultimele trei luni s-a corelat cel mai bine cu un portaj mai redus de pneumococ (83).

Dacă însă se studiază numai portajul de *H.influenzae*, vom vedea că acesta este la fel de mare, independent de cele două vaccinuri utilizate și este determinat de simptomele de răceală, de prezența fraților, de portajul de pneumococ și de *Moraxella*, grupa de vârstă de 13-24 luni față de 6-12 luni, anii 2016-2017 comparativ cu 2017-2018 (84).

În perioada utilizării PCV 13 s-a remarcat clar un trend descendent în portajul serotipurilor vaccinale, care după implementarea PCV 10 a dus la creșterea serotipurilor, cum ar fi 19A care nu este acoperit de PCV10. Serotipurile non vaccinale PCV 13 însă domină clar întreaga perioadă de studiu.

Trebuie remarcată în perioada PCV 10 creșterea constantă a serotipurilor 19A și 6 C pe toată perioada de studiu considerate, de la 0.4% în 2016 la 7% în 2018.

În ceea ce privește susceptibilitatea la 5 antibiotice, aceasta a rămas stabilă de-a lungul timpului, în timp ce non susceptibilitatea la mai mult de un antibiotic a cunoscut o creștere. Nu a existat nici un fel de rezistență la levofloxacină, crescând în schimb non susceptibilitatea în era vaccinului PCV 10 valent la penicilină, eritromicină, trimethoprim sulfametoxazol. Numărul mai mare de cazuri de otită medie acută din anul 2018 ar putea fi explicat de copiii cu vârstă mai mare înrolați în studiu.

Alimentația naturală pare că nu ar avea beneficii asupra portajului de pneumococ.

Populația din studiu însă și-a modificat caracterul, fiind la sfârșitul studiului majoritatea vaccinată cu PCV10. Portajul de pneumococ a rămas și el mare pe tot parcursul studiului. Este de asemenea interesant de remarcat, faptul că exista un portaj mare de *H.influenzae*, deși vaccinarea s-a efectuat cu PCV 10, care teoretic protejează împotriva acestuia.

Autorii cercetării conchid că principalii predictorii din cadrul studiului sunt sexul, perioada studiului (făcând aici referire mai ales la anotimp), existența de frați în casă, răcelile obișnuite, portajul de *H.influenzae* dar și cel de *Moraxella*. Dacă în prima parte a studiului a crescut portajul pentru serotipurile non vaccinale ale PCV 13, în ultima parte a crescut pentru 19A, 6A. Însă cea mai importantă creștere a fost cea a serotipului 19A. De asemenea, au crescut și numărul serotipurilor 23B, 11A, dar și 15B.

De vreme ce studiul a exclus copiii care primiseră antibiotic înainte cu 7 zile de înrolare, este foarte posibil ca unele date să se fi pierdut, inclusiv date legate de portajul serotipurilor.

Serotipul 6C a crescut la rândul lui relativ mult, de la 0.5% în prima perioada a studiului (2016) la 5.8% în perioada 2017-2018.

La fel ca și suedezi care, având schema de vaccinare diferită în regiunile țării, unele

cu PVC 13 altele cu PCV 10, au remarcat la rândul lor creșterea importantă a serotipului 6C (85). Finlandezii, care au implementat pe schema Națională de vaccinare vaccinul PCV 10 au fost și ei martorii creșterii serotipurilor 6C și 19A (86).

Portajul de *H.influenzae* a fost relativ stabil pe perioada studiului, dar este mare pentru grupele de vârstă 6-12 luni și 12-24 luni.

În Turcia implementarea vaccinului PCV 7 a fost determinată de rata de portaj de 22.5% în populația generală la copii, în care acoperirea vaccinală cu PCV 7 depășea 52%, vaccinul fiind implementat într-o schemă de 3+1 (87). Exudate nazale s-au recoltat la un număr de 557 de copii din Turcia, înainte de împlinirea vârstei de 2 luni și care au fost ulterior urmăriți.

La un număr de 537 de copii s-a recoltat exudat nazal înainte de vaccinare iar cohorta urmărită a constat din 138 de copii, dintre care 47 purtători și restul non purtători.

Din populația considerată, 48% au fost băieți și media de frați din familie a fost de 1. Un singur copil dintre cei purtători mergea la creșă. Din grupul de control 135 de copii, doar la 3 a existat istoric de otită medie acută, în vreme ce încă 22 de copii pe parcursul studiului au raportat episoade de otită medie acută. La 10 copii a fost raportată utilizarea de antibiotic cu o lună înainte de intrarea în studiu, în timp ce 54 de copii au fost efectiv tratați în timpul lunii dinainte de intrarea în studiu. Există în felul acesta diferențe mari de metodologie între studiul nostru și cel din Turcia.

Portajul de pneumococ la cei 537 de copii cu vârsta de sub 2 luni a fost de 8.6%, în timp ce la 48% dintre copiii din grupul de 135 au fost purtători de pneumococ. Dintre purtători, 33% purtau serotipuri vaccinale, în timp ce 66.7% purtau serotipuri non vaccinale.

Înainte de vaccinare, anotimpul nu avea nici un fel de relevanță, însă după vaccinare și, mai ales, dacă exista și un frate în familie de 5 ani sau peste, avea o importanță mare. Interesant este și faptul că majoritatea serotipurilor post vaccinare erau non vaccinale, în timp ce achiziția acestora a devenit mai accelerată în perioada de vaccinare cu PCV-7.

În studiul din Turcia nu serotipul 19A a fost cel care a crescut la cote alarmante, ci serotipul 6A. La rândul său și acest serotip este grefat de rezistența la antibiotic, dar mai ales de posibilitatea infecțiilor invazive cu pneumococ (87).

În era PCV 7, deși la o populație vaccinată rezistența la antibiotice, respectiv la penicilină, după o inițială scădere a crescut, fiind intermediar rezistentă la antibiotic.

La data publicării studiului nostru de portaj, datele locale de rezistență la antibiotic erau pentru Brașov îngrijorătoare. În plus, impuneau implementarea vaccinării cu vaccin pneumococic pe Schema Națională de Imunizare (SNI).

Răspunsul la vaccinarea pneumocică este extrem de complex, fiind dependent de achizițiile de serotipuri de pneumococ în perioada de dinainte de vaccinare, dar și de achizițiile de după vaccinare.

Într-un studiu randomizat care a evaluat un număr de 1754 de copii care au primit PCV 7 sau PCV 13 la vârsta de 2, 4, 6 și 12 luni, exudatele nazale au fost obținute la 2, 4, 6, 7 și 12 luni. IgG s-a obținut la 1 lună după schema primară de vaccinare și a doua măsurare s-a realizat după rapelul de la 12 luni. Interesant a fost faptul că s-a observat un răspuns imun mai slab după primele doze de vaccin, mai ales pentru serotipurile 6A, 6B, 18C și 19F, cu un trend similar observat și pentru 23F.

Portajul de 9V, 14 și 19A însă nu a demonstrat un trend similar cu cel descris mai sus.

Cele mai importante determinări ale acestui studiu populațional mare au fost că răspunsul imunitar este mult mai mic, mai ales dacă exista portaj înainte de vaccinare. Acest lucru este valabil mai ales pentru serotipurile 6B, 19F și 23F.

Scăderea răspunsului imun pare a varia, datorită momentului achiziției pneumococice în relație directă cu numărul de doze de vaccinale administrate.

Modelul acesta a fost similar pentru serotipurile 6A, 6B, 18C, 19F și 23 F și pentru aceste serotipuri GMC-ul IgG-ului la vârsta de 7 luni, deci după seria primară de vaccinare a fost mai mic dacă achiziția de pneumococ a avut loc înainte de momentul primului vaccin și maximă dacă achiziția nu a avut loc înainte de doza a treia de vaccin.

De asemenea, GMC-ul după doza de rapel a fost mult mai mic la cei care au avut serotipuri achiziționate înainte de vaccinare, comparativ cu cei care nu au achiziționat aceste serotipuri deloc pe parcursul întregii perioade de studiu.

Pe de altă parte, nu toate serotipurile au demonstrat aceiași capacitate de hiporesponsivitate. Serotipurile despre care discutăm în acest punct sunt 19A, 14 și 9V, atunci când au fost studiate înainte de orice doză de vaccin primară sau rapel. Pentru serotipurile purtate, dar la care nu s-a demonstrat hiporesponsivitate, nu se cunoaște mecanismul acestui tip de comportament.

Răspunsul imun scăzut, în pofida vaccinării corecte, a fost descris de-a lungul timpului și la populația pediatrică și la cea adultă, atât pentru vaccinarea pneumococică dar și pentru cea meningococică și este cea care apare în cazurile de boală invazivă la copiii corect vaccinați.

Numeroase mecanisme au fost propuse, toate fiind legate de capsula polizaharidică și de răspunsul imun (88). Pentru colonizarea nazofaringiană s-a sugerat faptul că capsula polizaharidică ar fi absorbită egal (89).

Circulația unor mari cantități de capsulă polizaharidică ar putea determina o scădere a diferențierii limfocitelor B în partea marginală a splinei, dar și a nodulilor limfatici. Acest lucru determină inactivarea limfocitelor B.

Antigenele polizaharidice, pe de altă parte, activează un răspuns din partea limfocitelor T, stimulând celulele cu memorie. Acest lucru nu va putea însă explica fenomenul de reactivitate încrucișată determinată de serotipurile 6B față de 6A și de 19F vs 19A.

Un alt element important în această conexiune pare a fi deținut de factorii genetici (89). De asemenea, o multitudine de alți factori joacă roluri importante, cum ar fi aglomerarea, vârsta fraților, statusul nutrițional, istoricul infecțiilor.

Nu în ultimul rând, un rol important îl joacă și imunitatea înăscută asupra clearance-ului mucozal, inclusiv rolul interleukinei 17A producătoare de Th17 CD4 +, care este recunoscută ca fiind extrem de potentă în lupta împotriva colonizării pneumococice și implicit a bolilor invazive determinate de pneumococ.

Studiul este interesant și din perspectiva asupra protecției legate de episoadele de otită medie acută, dar și de boală invazivă pneumococică, unde se pare că este nevoie de titruri mult mai înalte de imunoglobuline.

În țări precum România, în care portajul este extrem de înalt, scăderea răspunsului imunitar este incriminată în apariția infecției invazive.

De la momentul introducerii sale pe schemele de imunizare, PCV 13 și-a dovedit eficiența în reducerea bolii invazive determinate de serotipurile conținute de vaccin, atât la populația vaccinată, cât și la populația nevaccinată, posibil prin protecția directă oferită de vaccin, dar și prin întreruperea circulației serotipurilor în populație (90). Cel mai probabil odată cu implementarea pe scară largă la nivel populațional a vaccinării cu PCV 13 se va reduce simțitor colonizarea, dar și boala invazivă, mai ales prin reducerea transmiterii ducând la eliminarea serotipurilor (91).

Câteva concluzii extrem de importante se pot desprinde din acest studiu și anume că cel mai important rămâne momentul achiziției de serotip, adică a portajului. Cu cât acesta apare mai devreme, cu atât șansele de a avea un răspuns mai scăzut la vaccin cresc. Posibil ca atunci când vaccinarea va fi generală, să asistăm la o scădere a importanței portajului, mai ales la vârstele mici.

Un studiu norvegian care a cuprins un număr de 896 de copii din 40 de grădinițe și care au primit vaccin cu PCV7, apoi combinat PCV 7 și 13 și mai apoi PCV 13 cu vârste variind între 8 și 80 luni, cu media de 44 de luni și la care 52% au fost băieți, a demonstrat

o eficiență mare a vaccinării. Este interesant de remarcat că acest studiu, la fel ca și studiul nostru, a dovedit că principalii factori asociați cu portajul ridicat au fost vârsta mică, fumatul pasiv, frații mai mari, dar și utilizarea de antibiotic în ultima lună dinaintea înrolării în studiu. În cadrul studiului, utilizând metoda regresiei, s-a observat de asemenea că istoricul de vaccinare, utilizarea recentă de antibiotic la copiii luați în studiu, precum și vârsta, rămân în continuare negativ asociate cu riscul de portaj. Dacă se lua în considerare vaccinul PCV 13 atunci acest lucru devenea și mai evident. Din anul 2006 când a început studiul și până în anul 2015, procentul copiilor vaccinați cu PCV 7 și mai apoi 13 a crescut de la 3% la 40% în anul 2008 și mai apoi la 99% în anul 2015. Utilizarea de antibiotice în tratamentul copiilor nu a variat foarte mult, însă a scăzut de la 9% la 5% și până la 8% în anul 2015.

Ceea ce este însă în concordanță cu toate celelalte studii este faptul că a crescut la populația pediatrică portajul de serotipuri non vaccinale odată cu implementarea vaccinării, inițial cu PCV 7 și mai apoi în era PCV13. Interesant autorii nu au observat o completă înlocuire a serotipurilor odată cu vaccinarea cu PCV 13 în Norvegia.

Înlocuirea/replacement-ul cu alte bacterii de tipul *H.influenzae* dar și cu *Staphylococcus aureus* nu a fost observat. Alimentația naturală, care este continuată mai mult de trei luni în Norvegia, este și ea un element extrem de important, de care ar trebui să se țină seama. În cadrul studiului nu s-au găsit diferențe remarcabile față de celelalte studii legate de numărul de persoane care locuiesc în aceeași casă sau de fumatul pasiv, acestea fiind în concordanță cu celelalte studii (92).

Studiul lui Millar et al. a studiat repartitia serotipului 6C în perioada pre și în timpul și după implementarea vaccinării cu PCV-7 apoi cu PCV-13 la populația de indieni Navajo acoperind o perioadă de studiu cuprins între anii 1994-2009 (93). Ei au selectat tulpinile de CS6A atât din portaj cât și din boala invazivă și au ajuns la niște concluzii extrem de interesante.

Portajul în era prevaccinală, prin studiul a 5177 de tulpini de pneumococ, dintre care 68.5% au fost pozitive, a demonstrat că 469 au fost CS6A pozitive și cu filtre sub 5 ani.

Colonizarea nazofaringiană a făcut obiectul de studiu al unui articol personal de review al pneumococului în anul 2012.

Vaccinul 7 valent existent pe piață la momentul scrierii articolului arăta o bună protecție și reducere a portajului nazofaringian pentru serotipurile conținute în vaccin, însă anunța o creștere a serotipurilor non vaccinale, dintre care cel mai agresiv se reliefa 19A (94). Mai îngrijorător era faptul că la nivel de colonizare apărea o modificare a florei care coloniza în favoarea serotipurilor non vaccinale (95).

Într-un studiu de portaj de dinaintea perioadei vaccinale la copii se demonstrează că la nivelul mucoasei nazofaringiene există copii care poartă serotipuri cu potențial de agresivitate mai mare decât alte serotipuri care nu erau conținute în vaccinul 7-valent, respectiv 1, 5, 7F, 19A, 9V, 14 care puteau determina apariția pneumoniei pneumococice (96).

Un alt studiu care a urmărit rata de colonizare și cu ce anume este colonizată mucoasa nazofaringiană, într-un program de imunizare de 2+1, demonstrează un lucru care ulterior avea să fie reconfirmat și anume că deși se constata scăderea ratei de portaj la serotipurile conținute de către vaccin, totuși rata portajului nazofaringian se menținea înaltă.

Un număr relativ mare de copii (12.7%) continuau să fie purtători, ba mai mult, aveau serotipuri care nu erau acoperite de către vaccin, și aproximativ 23.3% dintre cei care primiseră doar o doză de vaccin erau în continuare purtători (97).

Cu toate acestea, la data respectivă era deja evident faptul că se înlocuiau în cadrul portajului serotipurile vaccinale, cu cele non-vaccinale, dintre care unele erau mai agresive decât altele.

I.4. Otita acută medie și pneumococul

OMS estimează că aproximativ 51000 de decese anual se datorează otitei medii pneumococice (98). Aproximativ 65 milioane de oameni suferă de surditate de diferite grade, survenită în urma otitelor medii la vârsta de sub 5 ani (99). Este interesant că fiecare episod de otită medie acută la copii este urmat de un episoade de otită seroasă care poate să dureze până la 4-6 săptămâni și care determină diminuarea parțială a auzului, alături de tulburări de limbaj și acolo unde este cazul pot să apară tulburări de dezvoltare neuropsihică (100).

Din punct de vedere economic otita medie consumă numai în SUA 6 miliarde de dolari, atât pentru tratamentul antibiotic, dar și pentru zilele de absență și de discomfort ale copilului și ale familiei.

Multă vreme s-a considerat că otita medie acută s-ar datora unei disfuncții a trompei lui Eustachio, care suferă un proces de maturizare în decursul timpului, făcând ca numărul episoadelor de otita medie acută să fie mai numeroase la vârstă mică comparativ cu vârstele mai mari (101). Unii cercetători au considerat însă otita medie acută, ca fiind de fapt o boală cu determinism genetic, așa cum par a susține studiile pe gemeni, precum și polimorfismul unei singure nucleotide care implică citokinele imun mediate (102).

Timpanocenteza este una dintre investigațiile cele mai importante, care așa cum sustine grupul de la Rochester, care poate împărți copiii în două grupe mari de studiu: anume cei care vor face peste 3 episoade de otită medie într-un interval de 6 luni, față de cei cu trei episoade în 12 luni, aceștia din urmă fiind cei mai puțin expuși la recurența episoadelor (103). Grupul sugarilor predispuși la otite medii acute recurente pare a avea similarități cu nou născuții în ceea ce privește imunitatea înăscută (104).

Celulele mononucleare din sângele periferic al copiilor predispuși la otite frecvente par să integreze celulele Th1 și Th17 și să lupte cu ajutorul celulelor Th2 și ale Treg cu o aparentă lipsă de stimulare a citokinelor de către celulele prezentatoare de antigen. Problema însă pare a dispărea în jurul vârstei de trei ani.

În studiile noastre (105,106), am efectuat timpanocenteza furnizând în felul acesta date importante legate de situația epidemiologică din țara noastră.

Studiul Rochester include un număr de peste 20000 de probe, acoperind o perioadă

de 12 ani (2006-2018) în care s-au recoltat atât exudate nazale, faringiene, culturi din timpanocenteză, ser din sângele periferic, monocite care au fost utilizate pentru a se studia caracteristicile copiilor care fac otită medie acută. Acestea au reprezentat un număr de 3837 de vizite la 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30 și 36 de luni și 1276 de consultații pentru otite medii înainte de vârsta de 36 luni.

Date cu privire la pattern-urile de rezistență la antibiotice și distribuția serotipurilor de *S. pneumoniae* din România sunt limitate. Evaluarea continuă și activă a spectrului de agenți patogeni ai otitei medii acute (OMA) și a fenotipurilor de rezistență la antibiotice, în România este importantă, în special în perioada care precedă introducerea vaccinului pneumococic conjugat (PCV).

Obiectivele studiului (Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Mercas A, Bleotu L, Zavarache C, Porat N, Dagan R, Greenberg D. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. *Int J Infect Dis.* 2013 Sep;17(9):e702-6. doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.002) au fost următoarele: (1) evaluarea spectrului de agenți otopatogeni și a pattern-urile de rezistență la antibiotice; și (2) acoperirea PCV a serotipurilor de *S. pneumoniae* izolate din lichidul din urechea medie, în Brașov, România, în perioada 2009-2011.

Pacienți și proceduri

Pacienții incluși în studiu au fost copii sub vârsta de 5 ani diagnosticați cu otită medie acută (OMA) de către un medic pediatru, un medic de familie sau de către ORL-ist. Diagnosticul s-a pus atunci când pacienții întruneau următoarele criterii: (1) simptome și semne sugestive pentru OMA (febră, iritabilitate, eritem și bombarea membranei timpanului); (2) simptomatologie acută cu durată > 7 zile. Bombarea membranei timpanului (alături de simptome de OMA) a fost prezentă în toate cazurile unde s-a efectuat timpanocenteză.

Bacteriologie

Probele au fost recoltate și păstrate la -70° C la Laboratorul de Microbiologie al Spitalului Clinic de Copii Brașov și au fost, mai departe, transportate la Unitatea de Boli Infecțioase Pediatriche a Laboratorului din Centrul Medical al Universității Soroka, Beer-Sheva, Israel, unde s-a efectuat testarea serotipică și susceptibilitatea antimicrobiană.

Rezultate

Au fost înscriși în studiu 212 de copii cu vârsta < 5 ani. Au fost 120 (56.6%) băieți. Vârsta medie (\pm deviația standard (DS)) a fost 18.0 ± 14.2 luni. 99 (46.6%) episoade au apărut la pacienții < 12 luni și 136 (64.2%) la pacienții < 2 ani. 111 Probe (52.4%) au fost pozitive. Pacienții la care s-au identificat culturi pozitive au fost mai în vârstă decât pacienții de la care s-au identificat culturi negative (20.6 ± 15.2 luni vs. 15.4 ± 12.6 luni, $p = 0.008$).

S-a obținut un total de 114 tulpini izolate (76 din timpanocenteză și 38 din otoree spontană). *S. pneumoniae* a fost agentul cel mai comun izolat (81 de tulpini, 78 episoade, 71.1% din totalul de patogeni izolați și 70.3% dintre toate culturile pozitive), urmat de *Haemophilus influenza* (26, 23; 22.8% și 20.7%), *Streptococcus pyogenes* (5, 5; 4.4% și 4,5%) și *Moraxella catarrhalis* (2, 2; 1,8% și 1,8%). La 3 pacienți (1.4% dintre toate episoadele), s-au izolat atât *S. pneumoniae*, cât și *Haemophilus influenza*. Nu s-a observat nicio diferență între procentul de *S. pneumoniae* izolat din proba obținută prin timpanocenteză, comparativ cu proba obținută din otoreea spontană (55/76, 72.4% vs. 26/38, 68.4%, $p = 0.7$).

Susceptibilitatea la antibiotice și serotiparea au fost testate la 48/81 (59.3%) de tulpini de *S. pneumoniae* izolate. 45 (93.8%) De tulpini *S. pneumoniae* izolate au fost non-susceptibile la penicilină; 24 (53.3%) au prezentat valori ale MIC (concentrații minime inhibitorii) ≥ 2.0 $\mu\text{g/mL}$. Șase dintre tulpinile izolate prezentat o valoarea a MIC la penicilină de 16.0 $\mu\text{g/mL}$, o tulpină a prezentat o valoare a MIC de 8.0 $\mu\text{g/mL}$, iar 3 au prezentat o valoare a MIC de 4.0 $\mu\text{g/mL}$. 37 (77.1%). Dintre tulpinile izolate au prezentat valori ale MIC la ceftriaxonă ≥ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (32.0 $\mu\text{g/mL}$ pentru 5 tulpini, 4.0 $\mu\text{g/mL}$ pentru 9 tulpini, 2.0 $\mu\text{g/mL}$ pentru o tulpină și 1.0 $\mu\text{g/mL}$ pentru o tulpină). Ratele de non-susceptibilitate la sulfametoxazol/trimetoprim, eritromicină și clindamicină au fost 36/48 (75%), 28/48 (58.3%) și, respectiv, 17/48 (35.4%). Toate tulpinile izolate au fost sensibile la cloramfenicol.

Cele mai comune serotipuri de *S. pneumoniae* au fost următoarele: 19F (14, 29.2%), 6B (8, 16.7%), 23F (8, 16.7%) și 14 (6, 12.5%). Serotipul 19A a fost identificat la 3 (6.2%) pacienți și 6A la 2 (4.1%) pacienți. Serotipurile non-PCV13 au reprezentat 6 (12.6%) dintre toate serotipurile, iar 4 dintre acestea au fost non-susceptibile la peniciline. Șase (75%) dintre cele 8 serotipuri 23F izolate a prezentat o valoare a MIC de 16.0 $\mu\text{g/mL}$ la penicilină și o valoare a MIC de 32.0 $\mu\text{g/mL}$ la ceftriaxonă; 3/14 (21.4%) dintre serotipurile 19F izolate

au prezentat o valoare a MIC de 4.0 µg/mL la penicilină, iar un serotip a prezentat o valoare a MIC de 8.0 µg/mL la penicilină. Tulpinile MDR au inclus, în ordine descendentă, serotipurile 19F, 6B, 23F, 19A și 6A. Dintre cele 14 serotipurile 19F izolate, 13 (92.9%) au fost non-susceptibile la penicilină, eritromicină și sulfametoxazol/trimetoprim și 9/13 (69.1%) au fost, de asemenea, non-susceptibile la clindamicină. Toate cele 8 serotipuri 6B identificate au fost non-susceptibile la penicilină, eritromicină, sulfametoxazol/trimetoprim și clindamicină. Toate cele 8 serotipuri 23F izolate au fost non-susceptibile la penicilină, eritromicină și sulfametoxazol/trimetoprim, iar 5/8 (62.5%) și la clindamicină. Toate cele 3 serotipuri 19A izolate au fost non-susceptibile la penicilină, eritromicină și sulfametoxazol/trimetoprim, iar 2/3 (66.7%) și la clindamicină.

Discuții

Scopul studiului a fost de a obține date cu legătură la importanța *S. pneumoniae* în etiologia OAM, în România. De asemenea, s-au analizat fenotipurile de rezistență la antibiotice și s-au identificat serotipurile agentului patogen, înainte de introducerea vaccinului universal PCV în România.

Principalele concluzii au fost: (1) copiii diagnosticați cu OMA, cu culturi pozitive au fost mai în vârstă decât cei cu culturi negative; (2) *S. pneumoniae* a fost principalul agent patogen identificat, fiind izolat în 74.3% dintre culturile pozitive; (3) majoritatea tulpinilor izolate au fost rezistente la penicilină, eritromicină și trimetoprim-sulfametoxazol, iar multidrog-rezistența a fost frecventă; (4) PCV-urile actuale ar putea preveni majoritatea OAM cu pneumococ, din regiune. Acest studiu necesită, în continuare, o monitorizare a spectrului etiologic al OAM și a pattern-urilor de rezistență la antibiotice a agenților patogeni implicați, și după introducerea PCV-ului în programul național.

Se știe că în cadrul unui proces inflamator acut numărul de neutrofile crește. Multiple serotipuri de pneumococ, cum ar fi 1, 5, 7F, 9V și 14 sunt frecvent întâlnite în nazofaringele copiilor cu pneumonie comunitară alveolară (CAAP), în timp ce serotipurile 1, 3, 5, 12F și 19A se regăsesc mai frecvent în lichidul urechii medii la copiilor cu otită medie acută (AOM). Bazându-ne pe patogenia ambelor boli, am emis o ipoteză conform căreia, rezistența la antibiotic va fi similară atât pentru *S. pneumoniae* izolat din lichidul urechii medii obținut de la un pacient cu otită medie acută cât și pentru serotipurile izolate din nazofaringele copiilor cu pneumonie comunitară alveolară.

Acest lucru este valabil și pentru otita medie acută. În cadrul acestei afecțiuni la sugarii predispuși să facă otită medie se constată o creștere marcată a neutrofilelor. La cei predispuși există o scădere a mRNA ului citokinei IL-1 β din partea neutrofilelor (103). Dacă apare otita medie pneumococică în cursul unui episod declanșat de virus, atunci în populația predispusă la otita medie se constată un deficit de factor de creștere epidermal, de receptor pentru acest factor dar și de angiotensină.

De asemenea, există un deficit de factori chemoatractanți ai neutrofilelor (103). Dacă însă se compară exudatele nazale și serul sugariilor cu otită medie acută, cei predispuși față de cei care nu au această predispoziție, se constată că există nivele de IL-2 mai mari la cei predispuși față de ceilalți însă nivele scăzute de IL-7 și de IGFBP 4.

Sugarii predispuși la otite medii acute sunt și cei care au cele mai frecvente episoade de infecții virale în perioadele de vârf epidemic, ceea ce reflectă de fapt un răspuns citokinic proinflamator deficitar al acestor copii.

Dacă se studiază specific anticorpii față de pneumococ în nazofaringe în cursul unui episod de otită medie acută, un nivel crescut de anticorpi dobândiți natural față de aceste antigene va determina episoade mai rare de afecțiune. Aceste evenimente se leagă mai ales de PhtD, PcpA și Ply și sunt determinate prin studiul IgG și IgA (107).

Sugarii și copiii predispuși la otită medie vor avea nivele mai mari de colonizare cu pneumococ, comparativ cu ceilalți și nivele semnificativ mai mici pentru IgG și Ig A. La cei imunocompetenți, nivelele de anticorpi au crescut de 2-5 ori la întâlnirea cu pneumococul.

Celulele prezentatoare de antigen sunt o punte care leagă de fapt sistemul imun înăscut de cel adaptativ, iar studiile au căutat să determine dacă există deficite care să determine o mai mare susceptibilitate la copiii cu otite repetate față de ceilalți. Într-adevăr, la cei care sunt predispuși la otite repetate există un număr de monocite mult crescut, precum și un număr de CD mai mare față de cei care fac numai rar sau deloc otite medii. Acest lucru arată o stare proinflamatorie între perioadele de recurențe (103).

Pneumococul este unul dintre cei trei principali agenți cauzatori ai otitelor medii acute, alături de *Haemophilus non tipabil* și de *M. catarrhalis*. Așa cum discutăm în capitolul de portaj nazofaringian, colonizarea este un pas necesar, dar nu este singurul necesar pentru a determina apariția otitelor medii acute.

Există cel mai probabil un deficit imun față de pneumococ care, alături de colonizarea nazofaringiană, determină ca la acești sugari să apară episoadele recurente de otite. Ei par a nu putea controla procesul de creștere și de dezvoltare a otopatogenilor la fel

de bine ca și ceilalți din grupul celor mai puțin predispuși la otite (108). Dacă acceptăm că acest lucru este adevărat, atunci acest grup particular de sugari este de asemenea mult mai puțin responsabil la acțiunea vaccinurilor pneumococice. Datele din literatură sugerează că aceștia sunt mai puțin responsivi ca titru de anticorpi OPA la PT, FHA, PRN Pertussis față de grupul de control (109). Acest grup cu totul particular de sugari, nu va răspunde nici măcar la rapel cu titru de anticorpi la nivelul maxim la care ne așteptăm. Prin urmare, vaccinarea va induce un răspuns vaccinal mai redus la aceștia.

Numărul celulelor B cu memorie la acești copii este de asemenea mult mai mic comparativ cu grupul celor care nu fac episoade de otite recurente, având un număr de CD 19 și CD 27 mult mai mic (110). Celulele B cu memorie ale acestor sugari au dovedit, de asemenea, expresivitatea mai scăzută a grupei de TNF-uri dar și a moleculelor co-stimulatorii, având, prin urmare, o scădere a memoriei celulelor B față de otopatogeni, dintre care cel mai redutabil rămâne pneumococul.

Acest aspect are o implicație directă prin răspunsul pe care îl au față de vaccinarea anti-pneumococică acești copii (111). Mai mult, nivelele de citokine sunt crescute, mai ales cele din clasele IFN γ dar și IL-17A, IL-21, IL-23, precum și TGF- β (112).

CD4 este de asemenea scăzut la acești sugari, explicând și această scădere a răspunsului la infecția cu otopatogeni. Devine din ce în ce mai clar că acești copii predispuși la multiple infecții otice practic au un răspuns imun de tip înăscut prelungit față de cei care reușesc să se adapteze mult mai repede.

Acest răspuns tinde să fie mai degrabă anti-inflamator decât inflamator, ceea ce îi face predispuși la infecții otice recurente (113). Sistemul imun al acestor copii pare a se comporta mai degrabă ca un sistem care se axează pe imunosupresie și pe o stare hiperinflamatorie cronică la nivelul nazofaringelui, stare care va determina colonizarea cu otopatogeni agresivi și mai ales va favoriza infecțiile virale recurente (103).

În timpul infecțiilor virale este deschis astfel drumul către infecțiile urechii medii și respectiv al pneumococului (114).

Este interesant că de la primele articole legate de otitele medii acute diagnosticul acestei afecțiuni a devenit mult mai strict și cuprinde următoarele elemente: otalgia instalată relativ brusc alături de bombarea ușoară/moderată sau severă a membranei timpanice, prezența unui lichid tulbure sau opac la nivelul urechii medii, mobilitatea membranei timpanice mult redusă sau chiar absent (115). În plus, a mai intervenit și vaccinul anti-pneumococic inițial 7 și mai apoi 13 valent.

Într-un studiu care a cuprins 615 copii, extins pe o perioadă de 10 ani (2006-2016), copiii fiind urmăriți cel puțin 2 ani de la momentul includerii în studiu, numărul episoadelor statistic atopice se asociază în studiu cu apariția episoadelor de otită medie acută (116).

Considerând un număr de 231 de copii care au avut un prim episod de otită medie înainte de vârsta de 3 ani șansele ca aceștia să aibă otite recurente au fost de 70% pentru anii următori. Cu cât copilul era mai mic la primul episod de otită, cu atât șansele erau mai mari de recurență, acest lucru fiind statistic semnificativ.

Implementarea vaccinurilor anti-pneumococice a adus cu sine o modificare remarcabilă în ceea ce privește diferitele tipuri de otopatogeni, cu modificarea prezenței, dar mai ales a procentului de pneumococ. Interesant este și impactul vaccinului anti-pneumococic, atât cel 7 valent cât și cel 13 valent asupra rezistenței la antibiotic.

În lucrările noastre, în care am studiat evoluția pneumococului în cadrul bolilor mucoasale, în principal otita medie și pneumonie, nu am putut observa un trend descendent al rezistenței la antibiotic. E cunoscut faptul că până în August 2017 România nu avea implementată vaccinarea pe schema națională de imunizare.

Având în vedere că primul nostru studiu legat strict de otite este primul de acest fel de la noi din țară, considerăm important ca în acest punct să prezentăm felul în care am considerat populația de studiu. Studiul nostru a fost unul epidemiologic desfășurat pe o perioadă de doi ani (2009-2011) și a cuprins copiii cu vârsta de sub 5 ani care s-au prezentat cu diagnosticul de otită medie acută confirmat de către medicul otolaringolog.

Din perspectivă etiologică în tabele sunt prezentați principalii germeni descoperiți

Tabel 3 Principalii agenți patogeni identificați pe parcursul a 212 episoade de otită medie acută (111 culturi pozitive) în perioada 2009-2011 (reprodus după Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Mercas A, Bleotu L, Zavarache C, Porat N, Dagan R, Greenberg D. *Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania 2009-2011; microbiological characteristics and potential coverage of by pneumococcal conjugate vaccines. Int J of Infectious Diseases.*2013; 17(9):e 702-e706, doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.002)

Table 1
Acute otitis media microbiology of 212 episodes (111 culture-positive) during 2009–2011

Pathogen	No. of episodes ^a
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	78 (70.3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	23 (20.7)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 (4.5)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2 (1.8)
<i>S. pneumoniae</i> + <i>H. influenzae</i>	3 (2.7)
Culture-positive	111
Culture-negative	101
Total	212

^a The percentage of all culture-positive episodes is given in parenthesis.

Tabel 4 Serotipurile identificate la 48 de episoade de otită medie acută (reprodus după Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Mercas A, Bleotu L, Zavarache C, Porat N, Dagan R, Greenberg D. *Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania 2009-2011; microbiological characteristics and potential coverage of by pneumococcal conjugate vaccines. Int J of Infectious Diseases.*2013; 17(9):e 702-e706, doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.002)

Table 2
Streptococcus pneumoniae serotype distribution (in decreasing frequency) for 48 acute otitis media episodes

Serotype	No. episodes (%)	MDR
19F	14 (29.2)	13 (92.9%)
23F	8 (16.7)	8 (100%)
6B	8 (16.7)	8 (100%)
14	6 (12.5)	-
19A	3 (6.2)	3 (100%)
6A	2 (4.1)	1 (50%)
22F	2 (4.1)	-
9V	1 (2.1)	-
34	1 (2.1)	-
9A	1 (2.1)	-
7F	1 (2.1)	-
Omni-negative	1 (2.1)	-
Total	48	33 (68.7%)

MDR, multiple drug resistance.

Informații corecte legate de utilizarea antibioticelor înainte de episodul acut de otită medie a fost obținută de la 60.2% dintre pacienții care aveau culturi pozitive la miringotomie. Un procent de 42.6% dintre copiii cu culturi pozitive au primit tratament antibiotic înainte de momentul miringotomiei, în timp ce 33.7% dintre cei cu culturi negative primiseră antibiotic. Nu au existat diferențe importante din punct de vedere statistic între cei cu culturi pozitive și cei cu culturi negative. Studiul nostru dovedea la momentul publicării sale importanța implementării vaccinării vaccinului pneumococic conjugat și continua de fapt studiul inițial de colonizare nazofaringiană (117).

Un alt factor de risc interesant, care merită luat în discuție, este istoricul familial pozitiv pentru otita medie acută, care ridică suspiciunea unei moșteniri genetice legate de otitele medii acute (118). Esposito și colab. discutau la data publicării studiului nostru, ideea că există anumite variante genetice la copiii predispuși la otite medii, care sunt de fapt variante circulante în familiile lor și sunt strict legate de imunitatea înăscută (119).

Rasa este mai ales legată și de alte aspecte, în mod special cel socioeconomic, ceea ce determină ca rasa neagră și hispanică să fie mai predispuse la infecții acute inclusiv la otite (120). În studiul nostru nu am considerat decât aspectele socioeconomice.

Creșele și grădinițele sunt cei mai importanți vectori ai apariției otitelor medii acute, întrucât cel mai probabil încărcătura este maximă la acestea, ceea ce determină o rată mare de colonizare.

Otita medie acută suscită interes și din punct de vedere al prescripției de antibiotice și al impactului acestor prescripții asupra rezistenței la antibiotic (121). OMS-ul admite că

datorită rezistenței la antibiotice se înregistrează anual 25000 de decese în întreaga lume și aproximativ 1.5 miliarde de Euro sunt cheltuiți anual pentru a trata infecțiile multirezistente (122). Prin urmare, numeroase studii au fost realizate pentru a analiza impactul asupra rezistenței la antibiotic a otitelor medii acute la copil (123).

După cum reiese și din studiul nostru (105) rezistența la antibiotic este extrem de ridicată în rândul populației pediatrice cu otită medie acută. Cel mai frecvent germene izolat din culturile efectuate după timpanocenteză a fost pneumococul, urmat de *H.influenzae*, precum și *Moraxella catarrhalis* (124).

La fel și în studiul nostru aceștia au fost principalii germeni descriși în culturile din urechea medie. Pentru pneumococ majoritatea articolelor descriu rezistența înaltă la penicilină.

Datele publicate sugerează că avem una dintre cele mai înalte rezistențe la penicilină din literatura publicată în limba engleză. Pentru amoxicilină rezistența găsită în cadrul studiilor nu a fost atât de înaltă. În studiul nostru noi nu am testat pentru amoxicilină sau amoxicilină clavulanat.

Un aspect interesant se desprinde din toate studiile - marea majoritate a medicilor, în fața unui pacient cu otită medie acută, vor prescrie un antibiotic, înainte de a cunoaște rezultatul culturilor. Pe de altă parte, odată cu obținerea rezultatelor antibiogramelor, marea majoritate a bacteriilor vor fi de fapt rezistente la antibioticul prescris inițial.

Din perspectiva ISO pneumococul a fost împărțit în susceptibil, intermediar și rezistent la diferitele antibiotice, înțelegând prin susceptibil tulpinile sensibile la antibioticele din antibiogramă, rezistent la cele care nu răspundea și intermediar efectul clinic incert (125).

Există numeroase discrepanțe legate de definirea episoadelor de otită medie acută, de includerea sau nu, al otitelor recurente care au avut nevoie de tuburi de drenaj, de felul în care se prescriau antibioticele în zona geografică respective (126). Ceea ce este însă important este faptul că definirea episoadelor de otită medie trebuie să fie corectă din punct de vedere clinic și tratamentul trebuie dat în doză eficientă și ca durată de timp corectă.

O meta-analiză a lui Rosenfeld și colab. a demonstrat că otitele medii acute se vindecă fără nici un tratament în 60% dintre cazuri în 24 de ore și 80% în 2-3 zile, ceea ce ridică noi întrebări legate de oportunitatea de a trata fiecare posibil episod de otită cu antibiotic (127).

Un alt studiu care a cuprins 2.5 milioane de copii a demonstrat că administrarea de antibiotic de către medicul de familie a redus cazurile de otomastoidită, de aceea este necesar să tratăm 4831 cazuri de otită pentru a preveni un caz de otomastoidită. Costurile medicale prin urmare sunt imense (128).

Într-un studiu japonez care a cuprins un număr de 582 de tulpini izolate din urechea medie obținute prin timpanostomie de la copii între 0-15 ani, într-o perioadă de 18 luni (2016-2017) alături de hemoculturi, tulpinile izolatele au fost imediat puse pentru determinare în PCR RT și pe mediile de cultură cunoscute, mai apoi fiind caracterizate funcție de sensibilitatea lor la antibiotice inclusiv la penicilină. Acestea au fost considerate susceptibile, intermediare sau rezistente la aceasta din urmă. S-a testat rezistența la un număr de 10 clase de antibiotice cele mai utilizate în tratamentul infecțiilor otice.

Vârsta de până la un an deține un număr de 58.6% dintre episoadele de otită medie acută, fiind urmată de o scădere a numărului de cazuri la 2, 3 și 4 ani, corespunzând unui procent de 15.1%, 6.4%, 7.6%. Pneumococul a fost principalul agent etiologic al vârstei până la 5 ani, după care agenții etiologici s-au schimbat, locul lor modificându-se mai ales funcție de vârstă.

Impactul vaccinării nu este nici el neglijabil. Vaccinul PCV 7 valent a determinat reducerea importantă a numărului de otite medii acute, cu înlocuirea serotipurilor vaccinale cu noi serotipuri, în timp ce introducerea PCV-13 a determinat o modificare vizibilă, cu scăderea numărului de cazuri și, mai ales, o reducere a rezistenței la antibiotice.

Cea mai sensibilă și mai precisă metodă prin care s-a putut izola pneumococul și prin el clonele de pneumococ a rămas timpanocenteza, în timp ce culturile obținute prin spargerea membranei timpanului au dus la rezultate mai puțin satisfăcătoare.

Pe perioada vaccinului PCV 7 valent se evidențiază ca serotip nonvaccinal inductor de rezistență la antibiotice 19A, așa cum era de așteptat, în vreme ce implementarea vaccinării cu PCV 13 a determinat scăderea importantă a cazurilor de otită cu 19A (129).

Serotipurile 15A și 35B au fost raportate încă din 2002 în cadrul otitelor medii și a bolii invazive pneumococice dar proporția lor a devenit evidentă abia în era PCV 13 (130). În studiul nostru (105) rezistența înaltă era asociată și cu prezența 19A dar, mai ales, cu prescripția de antibiotic anterior stabilirii diagnosticului etiologic. Genele modificate în cadrul serotipurilor sunt cele care vor pune probleme, mai ales pentru serotipurile anterior sensibile la penicilină.

Este interesant de remarcat că există și alte serotipuri care au suferit mutații și din partea cărora ne putem aștepta la modificări, mai ales în ceea ce privește rezistența la antibiotice în perioada care urmează.

Cu toate acestea susceptibilitatea la antibiotice a rămas nemodificată în Japonia, prima linie de antibiotic fiind în continuare conform ghidurilor reprezentată de Amoxi/clavulanat cu dozele corespunzătoare de amoxicilină. Se constată creșterea serotipurilor 15A și 35B la fel ca și în alte părți ale lumii (131).

Antibioterapia în otitele medii acute ale copiilor cu vârste între 6-36 luni interesează lumea medicală cu precădere, întrucât avem de a face cu o rezistență în creștere la antibiotice și, mai ales, cu faptul că infecțiile pneumococice care se tratează în spital au o rezistență diferită față de cele care sunt tratate de către medicii de familie (132).

Este interesant de remarcat că un număr mare de exudate nazofaringiene sunt luate mai ales în cazul otitelor medii acute la copii (133). Este greu de interpretat un rezultat al acestora. De asemenea, exudatele devin importante în cazul sinuzitelor la copii, sau chiar a *Pertussis*-ului.

În cursul unui an de studiu (2018) au fost recoltate și analizate un număr de 2200 de exudate nazofaringiene la copii cu vârste între 0-12 ani din Suedia. Informațiile legate de rezistența bacteriană a pneumococului alături de *H.influenzae* a fost înregistrată.

Exudate nazofaringiene au fost de asemenea luate și prelucrate conform ghidurilor locale dacă exista rezistență la antibioticul prescris, dacă existau recurențe sau complicații ale afecțiunii, lucru care se întâmplă, mai ales, pentru otita medie acută, mai puțin pentru infecțiile de tract respirator superior sau pentru amigdalitele pultacee. Cele mai multe culturi, așa cum era de așteptat, provin mai ales din mediul de spital și mult mai puține din cadrul medicinei primare.

Aproximativ 41% dintre copii au fost tratați cu antibiotic înainte de recoltarea culturilor, în timp ce 34% sunt cel puțin o dată tratați, în ultimele două luni, înainte de administrarea antibioticului (133). Acest lucru l-am putut observa și în studiul nostru legat de otitele medii la copil (117).

De asemenea, se observă și corelația strânsă între rezistența la antibiotic și prescripția repetată de antibiotic (117)

Sosirea rezultatului la culturi a determinat schimbarea antibioticului la 29% dintre cazuri. Culturile au fost luate, mai ales la copiii cu vârsta de sub 3 ani la care incidența otitelor medii acute este și cea mai mare (134).

Pentru Suedia este recomandat, conform ghidurilor naționale, metoda de supraveghere atentă și activă ”watchfull waiting” în cazul otitelor necomplicate la copil. De asemenea, antibioticul de elecție rămâne penicilina V pentru copiii suedezi (135). Cele mai multe culturi pozitive au fost în perioada de iarnă, așa cum ne așteptam (136). Prezența tulpinilor rezistente în cadrul acestui studiu a fost însă mică (133).

Unul dintre cele mai exhaustive studii legate de timpanocenteze și de exudate a fost cel al lui Dagan și colab. (130) care au studiat corelația între prezența pneumococului și a *H.influenzae* în populația vaccinată înainte și după implementarea vaccinării cu PCV, inițial

PCV-7 și mai apoi PCV13. Din otitele medii autorii au studiat 11767 lichide din cadrul timpanocentezelor, dintre care 21.8% au fost numai cu pneumococ, 27.3% *Haemophilus non tipabil* și 13.4% o combinație între cei doi patogeni. Autorii au studiat și distribuția patogenilor în cadrul conjunctivitei acute, precum și a portajului nazofaringian.

Este interesant că, în condițiile în care exista *Haemophilus nontipabil*, serotipurile din otite și din conjunctivite erau diferite de cele nazofaringiene într-o proporție calculată de 33.2%.

În ceea ce privește progresia spre otita acută medie sau conjunctivită este clar că unele serotipuri par a deține un rol important, precum serotipurile 3, 1, și 14. Există o diferență de 1189 de ori de risc al serotipurilor 3 de progresie față de oricare altul.

Serotipurile 15B/C, 1,10A, precum și serotipurile 3 au cea mai mare șansă să progreseze spre conjunctivite acute. În prezența *Haemophilus influenzae non tipabil* cele mai multe șanse de progresie spre otite medii și conjunctivite o au din nou serotipurile 3, 1 și 14.

Atributele fenotipice de progresie ale serotipurilor pneumococice au fost și ele studiate - eficiența metabolică, încărcătura anionică, dimensiunea capsulei (137). Este evident că deși sunt întâmplător co-colonizatori ai tractului respirator, atât pneumococul cât și *Haemophilus non tipabil*, se potentează reciproc (138).

Prezența unei diversități în cadrul otitelor medii în care găsim doi patogeni cel puțin sugerează, de fapt, o alterare a unui răspuns la progresia bolii al serotipurilor propriu zise. Mai mult, formarea de biofilme în cadrul otitelor medii acute poate, la rândul său, să joace un rol deosebit de important în apariția bolii (139).

Prezența mai multor biofilme în cadrul unui episod de otită medie acută se asociază cu o reducere a virulenței capsulei pneumococice, care se va adăuga la ceilalți factori de virulență, precum pneumolizina și factorul de aderență pneumococică (140).

Deși modul de progresie către boală, mai ales pentru otitele medii acute și conjunctivite este clar din studiul lui Dagan R et colab. (130) că există o progresie de 26 de ori mai mare a anumitor serotipuri față de altele, corelate cu capsula pneumococică dar și cu aspectul lor morfologic. Alte studii au indicat că este nevoie de intervenția și a altor factori, care nu depind neapărat de capsulă (141).

Este interesant că copiii care au infecții mixte au și simptomatologia clinică mult mai exacerbată - febra este mai înaltă, riscul de recurențe este crescut (142). Pentru otite riscul de recurență este mult crescut în infecțiile mixte față de cele simple (139).

Continuitatea mucoasei respiratorii, atât la nivelul urechii medii cât și al conjunctivei, pare a susține ideea că o singură entitate este responsabilă pentru această situație (143).

Și în studiul nostru legat de otita medie acută la copii (117) am găsit prezența mai multor specii microbiene în era prevaccinală.

Posibil ca determinarea moleculară să ne ofere metode de studiu mult mai aprofundate și mult mai complexe decât cele existente avem, însă implementarea vaccinării cu PCV 7 și PCV 13 a determinat în mod cert reducerea episoadelor de otita medie acută și de conjunctivită (138).

O meta-analiză a tuturor trialurilor clinice publicate legate de efectul PCV 7 și PCV 10 asupra prevenției otitelor medii acute concluziona că rezultatele sunt modeste. Totuși autorii sugerau că introducerea în schemele naționale de imunizare a PCV 13 va avea un impact cert, reducând incidența otitelor medii. Includerea pe schemele naționale ale unui vaccin nu depind numai de studiile legate de impactul acestuia asupra otitelor medii dar, mai ales, asupra impactului acestui vaccin asupra bolii invazive și nu numai (144).

Dacă la capitolul de colonizare nazofaringiană discutăm rolul important al infecțiilor viro-bacteriene, în cazul otitelor medii acute avem de-a face cu o favorizare a apariției infecției în urma unei infecții virale (145). Mai mult, este interesant de remarcat faptul că infecția virală se transmite la ceilalți membrii ai familiei, favorizând la rândul ei apariția infecției pneumococice (146).

Studiile populaționale largi au dovedit că există o incidență temporală între circulația virusurilor și apariția bolilor mucosale, dar și invazive pneumococice (147).

Impactul vaccinurilor pneumococice pare să depășească strict prevenirea infecției bacteriene propriu zise, se poate presupune că are un efect și asupra prevenției infecțiilor virale, mai ales în ceea ce privește infecțiile respiratorii inferioare (148).

Cohorta aleasă pentru studiu a constat din 923 de copii, urmăriți de la momentul nașterii până la vârsta de 2 ani din aprilie 2008 până în Aprilie 2012. Părinții au primit jurnale zilnice în care erau notificate toate infecțiile de tract respirator superior sau inferior. Grupele de copii au fost stratificate să primească vaccinul PCV 10 funcție de vârsta lor, iar timpul mediu de urmărire a fost de 1.7 ani. La 1227 de episoade infecție virală a fost detectat virusul prin PCR Multiplex iar cele mai frecvente etiologii au fost rhinovirusul și virusul respirator sincițial. În cazul otitei medii acute în 73% dintre episoade a fost detectat un virus. Eficiența vaccinală a fost de 23% pentru episoadele de otită medie acută în care a apărut și o coinfecție. Ceea ce este însă demn de a fi remarcat este faptul că au fost administrate mult mai puține antibiotice la copiii vaccinați (149).

Alte studii au demonstrat scăderi mult mai mari ale numărului otitelor medii acute după vaccinare (150).

Este evidentă o reducere de 26% a numărului de otite medii acute atunci când se vaccinează cu PCV10 (149). Scăderea ratei otitelor medii acute s-a explicat prin scăderea colonizării nazofaringiene după vaccinare anti-pneumococică.

Scăderea colonizării pneumococice poate să aibă și un efect secundar prin prevenirea atașării de către celulele epitelului respirator a virusurilor (151). Studiul a dovedit un efect asupra ratei și incidenței pneumococice, dar nu și asupra duratei simptomelor. Pentru episoadele de otită medie acută, la care s-a recoltat exudat nazal, acestea au fost mai lungi față de cele la care nu a fost nevoie să se recolteze exudat.

Pe de altă parte, există studii care au dovedit că în condițiile unei colonizări bacteriene importante infecția virală este mult mai îndelungată și mai puternică (152). Alte studii demonstrează că infecțiile virale sunt mult mai ușoare atunci când copiii sunt vaccinați anti-pneumococic (153).

Răspunsul inflamator în celulele epiteliale umane încărcate cu RSV este mult mai mare în prezența pneumococului (154).

Un alt studiu belgian, care a studiat modificarea portajului și a ratei otitelor medii acute la populația pediatrică, în condițiile în care vaccinarea a început în 2007 cu PCV 7 și a continuat cu PCV 13, ajungând la o acoperire vaccinală de peste 96% în anul 2013. Această introducere și schimbare fiind realizată în mod continuu, după care s-a trecut la PCV 10 în 2015-2016. Belgia este una dintre puținele țări din lume unde s-a trecut de la un vaccin cu mai multe valențe la unul cu mai puține (155). În ceea ce privește bolile invazive, Belgia a cunoscut o scădere importantă de la 84% la începutul vaccinării cu PCV 7 la 22% în anul 2017 (156).

Studiul a fost axat pe portajul nazofaringian și pe portajul din cadrul otitei medii acute. La studiu au participat 112 grădinițe și 21 de cabinete ale medicilor de familie din regiunile belgiene. La 1096 copii sănătoși s-a recoltat exudat, și 122 cu otite medii acute. De menționat că nu s-a efectuat timpanocenteză la acești copii luați în studiu, element important, care delimitează importanța fiecărui studiu în parte.

Copiii care frecventează grădinița în anul doi de studiu și fac otită medie acută au 26 de serotipuri. Prevalența serotipurilor prezente în PCV 13 este clar mai mică în cadrul otitelor medii acute studiate, așa cum era de așteptat.

Este evident din acest studiu că rata serotipurilor care nu sunt conținute în vaccinul 10 valent este mai mare în cadrul otitelor medii acute față de portaj și este net diferită de perioada de studiu, în care s-a administrat vaccinul 13 valent. Mai mult, în cadrul otitelor medii acute, serotipul 23B a fost prevalent și, mai mult, a fost rezistent la cotrimoxazol.

În cadrul otitelor medii acute MDR a fost de 6.3%, față de portajul nazofaringian, la care MDR ul a fost de 11.6%. Studiul belgian vine să completeze studiile deja publicate, care arătau că utilizarea vaccinului 10 valent a determinat o creștere de 10 ori a serotipului 19A ca și cauză de boala invazivă pneumococică.

Cu toate acestea, serotipurile 12A și 24F nu s-au regăsit la nivelul copiilor care au avut otită medie acută (155).

Un studiu recent european a demonstrat că 7% dintre otitele medii la copii erau însoțite de perforație spontană (157). Studiul a înrolat un număr de 470 de copii pe o perioadă de trei ani, care au avut perforație spontană și la care s-a însămânțat pe mediu de cultură (158). Vârsta medie a pacienților înrolați a fost de 20.8 luni.

La 53.4% dintre cazuri nu a fost izolat nici un patogen. Cel mai frecvent izolat otopatogen a fost *Haemophilus nontipabil* urmat de GAS și abia pe ultimul loc de către pneumococ.

Otalgiiile însă, au fost prezente mai ales la cazurile de pneumococ și de GAS.

Deși cu o bună acoperire vaccinală, 33% dintre cazurile la care era pneumococ în cultură, erau serotipuri acoperite de PCV 13. 29.5% dintre tulpinile de pneumococ erau penicilino intermediare, dar toate erau acoperite de PCV13.

Otita recurentă a apărut la 13.8% dintre copii. Studiul fiind efectuat într-o țară cu o acoperire vaccinală mare de către PCV, arată de fapt, că locul pneumococului este luat de *Haemophilus nontipabil*.

Dacă înainte de vaccinarea universală cu PCV13 pneumococul era cel mai frecvent otopatogen, după implementarea vaccinării prevalența scade, și ajunge abia pe locul trei din cadrul otopatogenilor. Prezența *H.influenzae* nontipabil arată de fapt că în cazul otitelor recurente este vorba de prezența unei coinfecții și de prezența de biofilme în cadrul urechii medii (130).

Cu toate că implementarea vaccinului 13 valent a avut rezultate extrem de bune, totuși se regăsesc serotipurile 3, 19A și 19F în 32.1% dintre cazurile studiate (158).

Articolul nostru (117) arată prezența tulpinilor 19A și 19F în perioada anterioară vaccinării la copiii, la care s-a efectuat timpanocenteză dar și la cei cu otoree spontană.

Mai mult, post implementare în Italia, se observă un trend al apariției serotipurilor non vaccinale în cadrul otitelor medii acute (159).

Un aspect important este reprezentat de populația pediatrică care are tuburi de timpanostomie, la care apare scurgere de lichid de la nivelul urechii medii, considerat a fi expresia unei otite medii acute care se drenează spontan. La aceștia principalii patogeni sunt stafilococul și *Pseudomonas* (160).

Întrucât date legate de prezența bacteriilor prezente în urechea medie se pot obține mult mai ușor la acest grup populațional, acesta reprezintă un lot de studiu interesant, mai ales din perspectiva microbiotei. La 92% dintre copiii sub 5 ani la care s-a putut studia atât secreția din nazofaringe cât și cea de la nivelul tubului de timpanostomie, s-a analizat întreaga microbiotă din punct de vedere taxonomic cu ajutorul RT-PCR.

S-a constatat prezența din punct de vedere ierarhic a zece profiluri distincte, care corespund la 12 bio-markeri. Biomarker-ii cei mai specifici aparțin însă speciilor de *Streptococcus*, *Klebsiella*, precum și *Haemophilus* (161).

Compoziția nazofaringiană a putut prezice durata simptomelor și recurența otoreei, chiar dacă cea de la nivelul tuburilor de timpanostomie nu a putut realiza acest lucru. În cadrul grupului de studiu care nu a primit antibiotic sau antiinflamator în nazofaringe, a existat o abundență de *Acinetobacter* urmată de *Neisseria*, *Klebsiella*, *H.influenzae*. Acest studiu susține că microbiota din cadrul urechii medii provine de la nivelul nazofaringelui, între ele existând o strictă legătură.

Mai mult, în cadrul otitelor medii, există o mare varietate de bacterii, mai ales atunci când avem de a face cu otite recurente (161). La nivelul nazofaringelui există un număr mai mare de specii aparținând alfa diversităților comparativ cu cele din urechea medie (162).

Asocierea existentă între speciile de *Streptococcus*, *Dolosigranulum* și *Moraxella* arată clar că există o nișă bacteriană în cadrul ecosistemului (163). Prezența lor la nivelul nișelor este determinată de saturația de oxigen locală, umiditate, prezența nutrienților, dar și de activitatea sistemului imun (164).

Mai mult, diseminarea acestora la nivelul urechii medii pare a fi dependentă și de alte colonii locale. La nivel individual există o relație de tip unu la unu de suport între nazofaringe și urechea medie (161). Există un comportament simbiotic al *P.aeruginosa* care ține de efectele pe care acesta le are, reducând nivelele de toxicitate ale unor bacterii favorizând creșterea metaboliților la altele (165).

Pe de altă parte, prezența pneumococului la nivelul nazofaringelui a prezis majoritatea speciilor de la nivelul tuburilor de timpanostomie (165). Pe de altă parte *Moraxella* se asociază cu o relativă stabilitate a acesteia (164).

Există date care sugerează rolul protectiv al *Moraxella* în otita medie acută recurentă (167). *Moraxella* pare a juca un rol numai în infecțiile otice ușoare (168).

Există în continuare numeroase întrebări legate de profilul microbiotei nazofaringiene dar și otice la copiii cu febra care depășește 38.5 grade Celsius. Care este

profilul microbiotei din primele zile de boală și care este profilul din timpanostomii? Există o concordanță între microbiota de la nivelul tuburilor și cea recoltată la nivelul canalului auricular (169).

Dacă România s-a aflat multă vreme într-o situație particulară legată de vaccinarea pneumococică, nefiind implementată pe schema Națională de imunizare, pentru Statele Unite situația era deosebită, prin implementarea PCV-7 valent care nu mai permitea studierea PCV 13 în mod fezabil.

De aceea articolul lui Pichichero și colab. devine cu atât mai interesant, căci urmărește două loturi de copii cu otită medie acută, primul la care se efectuează timpanocenteză între anii 2010-2013 și cel de al doilea, de control, care a beneficiat de timpanocenteză în perioada PCV7 respectiv 2007-2009.

Primul grup de copii a constat dintr-un număr de 239 de copii cu vârsta de sub 30 luni care au fost cu toții vaccinați cu PCV 13 conform recomandărilor de vaccinare, în timp ce grupul de control vaccinat cu PCV 7 a constat dintr-un număr de 348 de copii, dintre care au terminat studiul 248, cu un procent relativ egal băieți fete, cu vârsta medie de 6.5 luni. La lotul de studiu de 139 de copii au terminat studiul un număr de 162 de copii, cu vârsta medie de 6.2 luni și un număr relativ egal băieți fete.

Este interesant de remarcat că cei mai mulți copii vaccinați au fost de rasă albă, pentru ambele vaccinuri, pentru rasa neagră și hispanică fiind vaccinați în proporții mai mari cu PCV 13, dar și mai interesantă este distribuția otopatogenilor. Dacă pentru perioada de studiu care a cuprins anii de PCV-7 predomina din urechea medie în continuare pneumococul, pe perioada de studiu a PCV-13 se constată o distribuție a otopatogenilor în favoarea *H.influenzae* non tipabil, urmat de *Moraxella* și abia pe urmă de pneumococ (170).

Proporția de *Moraxella* a crescut considerabil după introducerea în schema națională a PCV 13. Este de asemenea de remarcat că și în cadrul colonizării nazofaringiene se constată același trend, pentru perioada PCV 13 locul pneumococului este luat de către *Moraxella*.

Dacă analizăm serotipurile non vaccinale, mai ales în perioada PCV 13, cele mai frecvente au fost 6C, 9A/L, 11A, 15A/B/C, 16/36/37, 21, 23A, 23B, 33F, 35B.

Pentru copiii vaccinați cu PCV 13 a existat pentru 42 de timpanocenteze o susceptibilitate crescută pentru 16 clase diferite de antibiotice, iar procentul de rezistență la penicilină a fost semnificativ mai mic la cei din grupul care a primit PCV 13, față de cei din grupul cu PCV7.

De asemenea, putem să remarcăm, că se menține sensibilitate înaltă în perioada PCV

13 la marea majoritate a antibioticelor uzual utilizate, adică pentru amoxicilină/clavulanat, cefotaxim, ceftriaxon. La amoxicilină clavulanat doar 2% dintre tulpinile de pneumococ au fost rezistente, iar la meropenem 1% au fost rezistente. Pentru trimetoprim/sulfametoxazol rezistența în era PCV 13 a fost întâlnită la 7% dintre tulpini. Nici o scădere în numărul otitelor medii determinate de către serotipul 3 nu a fost constatată pentru perioada PCV 13 (171). Serotipul 19F continuă să circule în cadrul populației (172).

Studiul a evaluat eficacitatea vaccinării cu PCV 13 în condițiile în care eficiența nu putea fi evaluată, de vreme ce timpanocenteza nu se mai practică în mod uzual.

Menționăm că centru nostru continuă să practice această metodă de recoltare și de studiu (117, 173).

Ben Shimol și colab. au raportat o scădere importantă a cazurilor de otită medie acută în perioada de vaccinare cu PCV13 (172). Există de asemenea un impact cert asupra incidenței otitelor medii acute, în sensul scăderii acestora, în condițiile vaccinării corecte cu PCV-13 (174).

Există numeroase studii care pun în discuție colonizarea nazofaringiană ca și unică cauză a otitelor medii la copil, din perspectiva faptului că la nivel de nazofaringe se găsesc o multitudine de bacterii care devin cocolonizatori (175). În perioada vaccinării cu PCV 13 există o urgență a serotipurilor 15 și 35 cel puțin la nivelul nazofaringelui (176).

Această constatare este extrem de importantă, întrucât serotipurile 15 A, 15B, 15C nu oferă protecție încrucișată și se regăsesc în populația care a fost vaccinată cu PCV 13 (177).

Mai mult, relevanța serotipurilor 15 B, 15C, 23A pentru bolile invazive pneumococice a fost deja subliniată de numeroase studii care s-au desfășurat în toată lumea (178). Proporția serotipurilor rezistente la penicilină a fost mult mai mică la copiii studiați în perioada PCV 13 comparativ cu perioada PCV7 (175).

Nu este notată o diferență legată de numărul otitelor medii acute în cele două perioade de studiu poate datorită înlocuirii serotipurilor vaccinale nu cele non vaccinale (170). Proporția de *H.influenzae* pare să rămână stabilă în cadrul celor două perioade de studiu (116).

Este cel mai posibil ca rezultatele acestui studiu să fie mai degrabă superpozabile pe rezultatele studiilor care s-au desfășurat în țările cu un nivel de trai ridicat față de cele cu nivel mediu sau scăzut (116).

Otita acută rămâne una dintre principalele afecțiuni pentru care se prescriu antibiotice în întreaga lume (179). La ora actuală, datorită rezistenței mari la antibiotice, devine imperios necesar să existe ghiduri de prescriere a antibioticelor legate de cele mai frecvente boli ale copiilor, printre care se numără și otita medie acută (180).

Asocierea între prescripția de antibiotice și rezistența la acestea, a fost luată în considerare în câteva studii (181). Cu toate acestea, puține trialuri clinice au luat ca end point studierea portajului de bacterii antibiotic sensibile respectiv antibiotic rezistente (182).

Un studiu finlandez a luat în considerare pe o perioadă de doi ani (2006-2008) copii care se prezentau pentru otită medie acută și care primeau antibiotic amoxicilina/clavulanat sau placebo; au recoltat exudate nazale pentru determinarea pneumococului. End pointul studiului a fost reprezentat de prezența sau nu a rezistenței la antibiotice a pneumococului, utilizând reglementările leagte de CMI a pneumococului. Pacienții au fost urmăriți la 8, 15, 30 și 60 zile de la începerea tratamentului. La 12.8% dintre copiii care au primit antibiotic s-a detectat pneumococ, în timp ce la grupul placebo s-a detectat la 45%, indicând astfel o scădere a prevalenței pneumococului de 73%, datorită administrării de antibiotic.

Mai mult, de la o scădere inițială a portajului de pneumococ în grupul care a primit antibiotic de 21% la sfârșitul celor 60 zile la vizita de studiu, se constată o scădere finală de 27%, dar o ușoară creștere față de momentul administrării inițiale. În grupul care a primit placebo la vizitele de studiu, 61-67% au fost purtători de pneumococ. Grupul care a primit tratament în primele perioade de vizită a demonstrat o scădere de 7%, iar la sfârșitul studiului de 35%, față de cei care au primit doar placebo. Practic, 54% dintre copii au fost fără portaj de pneumococ, dacă au primit tratament cu antibiotic de la început, în timp ce portajul la sfârșitul studiului a fost de 28% pentru aceștia. La cei care erau purtători de lanțuri nonsusceptibile la penicilină s-a determinat o scădere nesemnificativă la sfârșitul studiului; mai mult, nici unul nu purta lanțuri de susceptibile la penicilină.

La copiii care nu erau purtători de pneumococ la începutul studiului, la sfârșitul acestuia aveau o prevalența a portajului mai mică cu 86%. La această grupă de vârstă nu se constată schimbări majore legate de sensibilitatea pneumococului, nici în cadrul examinărilor la vizitele următoare.

Dacă se i-au în considerare atât lanțurile sensibile cât și cele rezistente ale pneumococului, există o scădere de 2.7 ori a susceptibilității la sfârșitul studiului. Acest lucru persistă o perioadă de 30 zile de la debutul studiului.

Susceptibilitatea finală al penicilină este însă mai scăzută de 2.28 ori la cei care au primit tratament față de cei care nu au primit. Susceptibilitatea la antibiotic rămâne însă mai mare la cei la care s-a administrat placebo față de cei care au primit antibiotic (183).

Studiul desfășurat la copii cu vârste între 6-35 luni ne arată de fapt impactul administrării de antibiotic asupra susceptibilității la antibiotice a pneumococului la aceste vârste. La sfârșitul studiului, adică la 60 zile de la tratament, copiii care au primit tratament antibiotic

au arătat o proporție mai mare a lanțurilor rezistente față de cei care au primit placebo. Interesant este și faptul că cei care au primit placebo la sfârșitul studiului aveau un clearance de 39% a lanțurilor de pneumococ față de cei care au primit antibioterapie. De asemenea, se observă și o creștere a lanțurilor rezistente la grupul copiilor care au primit tratament antibiotic (183).

Studiul Cochrane a urmărit administrarea antibioticului în otita medie (184).

Există date care sugerează că antibioterapia în colonizare nu a demonstrat nici un fel de diferențe (182). Un alt studiu a demonstrat la 12 zile o modificare importantă a sensibilității la antibiotice, însă nu a raportat prevalența absolută a lanțurilor susceptibile și a celor non susceptibile la penicilină (185).

Este interesant că timpul de administrare al antibioticului pare a contribui la rezistența la antibiotice. Cu cât durata de administrare este mai lungă, cu atât șansele de a avea lanțuri rezistente este mai mare (186). Europa are puține studii asupra acestui aspect al antibioterapiei și importanța asupra selectării lanțurilor rezistente la antibiotice (187).

În cadrul studiului finlandez FINOM a fost testată ipoteza că prevenția primului episod de otită medie prin vaccinarea antipneumococică poate determina prevenirea formării biofilmului responsabil de apariția otitelor recurente (188). Acesta a fost un studiu de faza III, desfășurat pe o perioadă de 4 ani (1995-1999), dublu orb randomizat (150).

Rezultatele pe termen lung cumulate împotriva otitelor recurente, dar și a plasării de tuburi de timpanostomie, a demonstrat că eficacitatea vaccinală este de fapt mult mai mare, mai ales în studiile de urmărire pe termen lung (150,174).

Alte studii, deși au dovedit eficacitate împotriva otitelor ca prim episod, nu au demonstrat aceeași eficacitate cumulată în timp (190).

Acest lucru demonstrează indirect că, apare înlocuirea tulpinilor vaccinale cu cele non vaccinale, determinând un efect invers decât cel așteptat - înlocuirea cu alte tulpini și menținerea, dacă nu chiar creșterea numărului de otite medii acute (191).

Programele ulterioare care au cuprins în schemele naționale PCV au demonstrat apariția fenomenului de înlocuire- replacement- cu serotipuri non vaccinale dar și un impact pozitiv al acestei vaccinări asupra otitelor (192).

Totodată vaccinarea în masă cu vaccin pneumococic va determina cel mai probabil înlocuire cu alte serotipuri vaccinale (193).

Alegerea serotipurilor în vaccinuri a fost făcută pe baza probabilității lor de a determina boală. Relația dintre portaj și boală și mai ales apariția otitei medii acute este mult mai subtil (194). Există, de asemenea, diferențe între portaj și boala invazivă

pneumococică ceea ce ridică noi probleme în ceea ce privește tipurile de serotipuri alese să facă parte din vaccin (195). Otita medie pe de altă parte, trebuie interpretată în contextul general, inclusiv al infecțiilor virale care fac parte din apanajul obișnuit al sezonelor de iarnă (188).

De asemenea, ceea ce știm până acum este faptul că vaccinul anti pneumococic determină apariția de anticorpi, care persistă un timp îndelungat, care contribuie în felul acesta la constituirea unei imunități pe termen lung (196). La data publicării studiului nu se știa clar dacă prevenirea primului episod de otită medie are un impact major asupra recurențelor (188). Este interesantă și dinamică relația între portajul de pneumococ și otita medie acută (197).

Portajul se va elimina în decurs de câteva zile până la săptămâni datorită unui răspuns inflamator declanșat de către neutrofile și suportat de către Th1 (198). Colonizarea este de fapt un eveniment imunizant, care se va finaliza prin consolidarea unei imunități adaptative față de pneumococ (199).

Coinfecția viro bacteriană este de fapt evenimentul care va determina invazia la nivelul trompei lui Eustachio și practic apariția otitei medii acute (200). Aproximativ 10% dintre copiii sunt susceptibili de a dezvolta otita medie, mai ales în perioada copilăriei mici, de la 6 luni la un an, după care vor fi cei care vor dezvolta episoade de otită recurentă din ce în ce mai rezistentă la antibiotic.

Această evoluție este legată și de factorii de mediu, dar și de cei imunologici (110). Infecțiile virale sunt recunoscute ca determinând progresia către invazia bacteriană (201).

La animalele de studiu lipsa exprimării TLR 2 și 4 determină un răspuns de clearance redus și un risc înalt de colonizare alături de infecție, față de cei care au acest răspuns (202). O analiză complex transgenomică, a determinat trei programe inflamatorii distincte care se desfășoară pe parcursul primelor trei zile de boală (203).

Într-un alt studiu activitatea de recrutare a neutrofilelor alături de activitatea mieloperoxidazei s-au dovedit a fi cele care au susținut evoluția și invazia pneumococului la nivelul urechii medii, determinând apariția otitei medii acute (204).

Un studiu recent a evaluat relația dintre colonizare și otita medie acută la două grupe distincte de copii, cu și fără infecții virale. La aceștia s-a măsurat încărcătura colonizării nazofaringiene cu pneumococ, în perioadele de afecțiune respiratorii virale, cu și fără otită medie acută. S-au utilizat tehnici complexe de RT PCR și s-au determinat încărcăturile de citokine.

Toate culturile din timpanostomii au fost mai departe analizate și subîmpărțite în episoade determinate de către infecții virale sau nu.

A existat o diferență de încărcătură de pneumococ, între cei care aveau infecții virale premergătoare otitei și cei la care acest episod lipsea (205).

A existat un număr mare de neutrofile pe parcursul episoadelor de otita medie acută. Numărul absolut al acestora era însă strict corelat cu starea de sănătate sau de boală. Acest lucru are repercursiuni directe, de câte ori avem un eveniment de boală, vom asista la o creștere a numărului absolut de neutrofile.

În cursul episoadelor de otită medie acută numărul absolut de neutrofile va avea o creștere de 600 de ori față de valoarea normală.

S-au măsurat de asemenea IL-6, 8, 10, TNF α , RANTES, MIP 1 α , la nivelul supernatantului de la nivelul mucoasei nazale, de unde s-a recoltat și apreciat încărcătura nazofaringiană. Nu a existat vreo valoare care să indice riscul de a dezvolta otită medie acută la acești copii. Evident, pe parcursul episoadelor de otită medie acută, s-a putut observa o creștere a valorii acestor parametrii.

Se poate constata însă, că populația pediatrică care are o incidență mai mare a otitelor medii acute este mult mai predispusă, să aibă o încărcătură de pneumococ mai mare și implicit un portaj mai mare nazofaringian, comparativ cu cea de control. Neutrofilele sunt esențiale în ceea ce privește controlul, dar mai ales, clearance-ul de pneumococ (203).

Rolul lor în absența unei bacterii la nivel nazofaringian este însă extrem de complex și relativ greu de explicat. Este de asemenea contradictoriu rolul lor, acestea fiind prezente în inflamația determinată de gripă, dar nu în aceea determinată de către inflamația VRS-ului (206).

Studiile au dovedit însă, că există o recrutare mai mare de neutrofile în cursul otitelor medii acute, care se asociază unei încărcături bacteriene mai importante, comparativ cu starea de sănătate.

Secreția de celule inflamatorii, citokine, se poate datora însă oricărui alt tip de celulă epitelială prezentă la acel nivel (207).

Copiii predispuși la otite medii au însă niște deficiențe care sunt observate la nivel de răspuns imun. Ei asociază producerea de Abs la pneumococ unui deficit de celule T dar și B (208). Acest fapt are repercursiuni directe, mediul fiind mult mai permisiv față de colonizare și implicit va determina un număr mai mare de episoade de otită medie acută.

În anul 2012 publicam un articol legat de impactul vaccinării cu PCV-7 asupra bolilor pneumococice, inclusive otitei medii acute, dar și colonizării nazofaringiene. Era anul în care ne îndreptam către vaccinarea cu vaccinuri cu mai multe valențe, fiind în dezbatere implementarea pe programele naționale ale vaccinurilor 10 și 13 valent.

La data scrierii articolului (209) arătam că PCV-7 demonstra o eficacitate asupra otitei medii acute în studiile finlandeze de 57%, pentru cele în care în cultură se regăseau serotipurile conținute în vaccinul 7 valent. Per total, o prevenție a episoadelor de otită medie acută de 34%, având culturi pozitive, cu toate serotipurile detectabile la data scrierii articolului. Prevenția datorată PCV7 în toate studiile era relativ modestă de 6-7%, în timp ce reducerea frecvenței episoadelor de otită medie acută era de 9%, iar evitarea plasării tuburilor de timpanostomie era de 20% (210).

Practic introducerea vaccinului PCV-7 în SUA a determinat o reducere de 20% în numărul vizitelor pentru această patologie la copiii având vârsta de sub 2 ani, însemnând de fapt, o reducere de 246 vizite la 1000 de copii (211). Similar, populația din regiunea Quebec raporta o reducere a incidenței vizitelor datorate otitelor medii acute de 13.2% (212).

În Australia, la 2.5 ani după introducerea în schema națională de imunizare a vaccinului PCV-7 valent, se înregistra o scădere semnificativă a numărului de vizite și de examinări, dar și de plasare de tuburi de miringotomie la copiii cu vârsta de sub 2 ani (213).

Similar în statul New York un studiu comparativ al timpului de dinainte dar și al celui de după vaccinarea cu PCV 7 demonstra un declin al otitelor medii acute precum și al necesității de implant de tuburi la nivelul timpanului (214).

Pentru partea europeană studiul din Liguria confirma datele și cifrele de pe continentul American (215). Statele Unite ale Americii introduce pe schema națională de imunizare vaccinul PCV 7 valent și, în felul acesta, asistăm la o scădere marcată a numărului de vizite pentru otită medie în ambulatoriu dar și la o scădere marcată a prescripției de antibiotic la nivel național care depășesc 40% (216).

Impactul economic al vaccinării populației pediatrice nu este nici el deloc neglijabil și anume o scădere de 32.3% între anii pre implementare și post implementare a vaccinării (216). Această reducere va fi susținută și în anii următori, ba mai mult, se reduc cheltuielile prin prescrierea de antibiotice pentru tratamentul otitelor medii acute la copii cu 36% (180).

Cu toate acestea, necesitatea unor vaccinuri care să înglobeze mai multe serotipuri este cel mai bine studiată de către Hoberman și colab. care atrag atenția asupra urgenței serotipului 19A care nu se regăsea în vaccinul 7 valent, iar marea majoritatea a rezistenței la antibiotice se găsea la nivelul acestui serotip (217).

În România, țară care nu va implementa vaccinarea pneumococică decât în August 2017, deci la 5 ani de la scrierea articolului, arătam că datorită prescripției abuzive de antibiotic, exista rezistența pneumococului atât în portajul nazofaringian cât, mai ales, la nivelul otitelor medii acute. Mai mult, pentru România, în cadrul studiilor noastre, 19A se regăsea între primele șase serotipuri (105,106).

Într-un studiu legat de susceptibilitatea la antibiotice în cadrul culturilor nazofaringiene din pneumoniile comunitare, comparativ cu culturile din urechea medie publicat în anul 2017 în PIDJ, demonstrăm că nișa biologică care este reprezentată de către fosele nazale este și cea care va determina serotipul din pneumoniile comunitare.

Se raportaseră până la data respectivului studiu clone cu totul particulare la nivelul țării noastre, respectiv 23F și 19A, cu o rezistență înaltă la penicilină, având CMI de peste 12 µg/ml.

Studiul nostru s-a desfășurat în perioada 2009-2014 și a fost un studiu de tip prospectiv, înrolând copii care nu au fost vaccinați anterior cu nici unul dintre vaccinurile PCV 7, 10 sau 13 valent (105).

S-au luat în considerare cazurile la care diagnosticul de otită medie acută a fost stabilit conform celor descrise anterior.

Diagnosticul de pneumonie comunitară a fost stabilit conform protocolului, efectuându-se radiografie la toți cei la care s-a suspiciat această patologie. Radiografia a fost interpretată de către un pediatru și mai apoi de către un radiolog specialist. Toți copiii care au avut diagnostic de pneumonie alveolară au avut la internare hemoleucogramă și proteină C reactivă (CRP), iar unii dintre ei și la externare.

Testul la procalcitonină nu este efectuat de rutină la noi în spital, dar marea majoritate a copiilor au primit ca și tratament fie ceftriaxonă singură sau combinația dintre ceftriaxonă cu vancomicină sau teicoplanină, pentru a trata pneumonia comunitară.

Din total de 391 de culturi obținute prin miringotomie pe perioada studiului, 32.9% au fost datorate pneumococului. Dintre acestea, un procent de 52.7% au fost serotipate. Dintre copiii cu pneumonie comunitară, 88 au avut elemente radiologice de diagnostic de pneumonie alveolară și culturi nazale pozitive pentru pneumococ.

Nu au existat diferențe între serotipurile descrise la nivelul exudatelor nazale din pneumonie și cele din miringotomie, cu excepția serotipului 17F întâlnit mai frecvent însă în otite. Cele șase serotipuri principale care se regăsesc în vaccinul PCV 13 valent le-am regăsit și noi în ambele tipuri de culturi, indicând o posibilă acoperire vaccinală la data respectivului studiu de 89.7% respectiv de 85.8% pentru otitele medii acute respectiv pentru pneumonii.

Rezistența la antibiotice s-a studiat pentru ambele tipuri de afecțiuni și s-a dovedit crescută în ambele grupe de studiu, cu o excepție notabilă, reprezentată de către cloramfenicol. Dintre tulpinile izolate din urechea medie, s-a descris rezistență înaltă la 94.1% dintre acestea pentru penicilină, înțelegând aici rezistența intermediară și totală și tot așa rezistență înaltă la penicilină și pentru grupul de pacienți cu pneumonie comunitară.

Interesant este însă faptul că CMI-ul pentru penicilină și cel pentru ceftriaxonă au fost mai mari pentru grupul având pneumonie decât pentru cel cu otită medie acută. Pneumococ MDR există însă în număr ridicat la ambele afecțiuni, aceștia constituind de fapt majoritatea.

Pentru otitele medii acute, serotipurile cele mai rezistente au fost reprezentate de 19A, 23F, 6B, în vreme ce rezistența lor a fost înaltă pentru penicilină, eritromicină, trimetoprim sulfametoxazol, precum și un MDR de 75% .

Aceleași serotipuri le întâlnim și în cadrul pneumoniilor comunitare, însă la acestea se mai adaugă și serotipul 14. Din nou a fost notată rezistență înaltă la antibiotice și în cadrul acestui grup de copii studiat. Vaccinul PCV13 valent acoperea la data studiului nostru 93.4% respectiv 97.9% dintre izolatele recuperate din urechea medie și respectiv din pneumonii.

Studiul nostru a pornit de la ipoteza că de fapt nișa de colonizare, care este nazofaringele, este de fapt și rezervorul de serotipuri pentru cele două afecțiuni mucoale reprezentate de către pneumococ, respectiv otita medie acută și pneumonia comunitară. Acest lucru a și fost demonstrat de către studiul nostru, în plus am demonstrat că serotipul 19F are o preferință pentru otitele medii și implicit urechea internă.

La data studiului nostru PCV 10 acoperea 68.2% și respectiv 81% dintre tulpinile izolatele din urechea medie, respectiv din pneumoniile comunitare.

Putem extrapola că serotipurile care le-am determinat la nivelul mucoasei nazofaringiene se regăsesc de fapt și la nivel pulmonar la grupa de copii la care s-a recoltat exudat nazal în cadrul pneumoniei comunitare.

Rezistența la antibiotice a fost înaltă la pacienții noștri.

Clasele de antibiotice la care avem rezistență mai joasă în România sunt tetraciclinele, puțin prescrise la copii și cloramfenicolul. Mai mult de 80% dintre serotipurile MDR (multi drug resistant) din cadrul studiului nostru erau acoperite de către vaccinul PCV 13 valent.

Principalele limite ale studiului nostru au fost reprezentate de numărul relativ mic de copii incluși. Una dintre principalele probleme care a determinat includerea unui număr mai mic de copii a fost reprezentată de faptul că suntem unul dintre puținele centre din lume care mai facem miringotomii la copiii cu vârsta de sub 5 ani. Studiul nostru însă a demonstrat magnitudinea problemei rezistenței la antibiotice la populația pediatrică în România. Pe de altă parte este primul studiu care a comparat două boli mucoale și a dovedit implicarea în patologie a portajului nazofaringian. Pentru țara noastră a fost primul studiu

care a demonstrat uniformitatea concluziilor legate de importanța portajului pneumococic în patologia pediatrică cu celelalte studii publicate.

Tabel 5 Date demografice și clinice ale copiilor cu otită acută medie pneumococică și portaj pneumococic pe parcursul pneumoniei comunitare de tip alveolar în Brașov, România (după Lixandru RI, Falup-Pecurariu C, Bleotu L, Mercas A, Leibovitz E, Dagan R, Greenberg D, Falup-Pecurariu O. *Streptococcus pneumoniae Serotypes and Antibiotic Susceptibility Patterns in Middle Ear Fluid Isolates During Acute Otitis Media and Nasopharyngeal Isolates During Community-acquired Alveolar Pneumonia in Central Romania. Pediatr Infect Dis J. 2017 Feb;36(2):151-154. doi: 10.1097/INF.0000000000001379. PMID: 27798547*)

TABLE 1. Demographic and Clinical Characteristic of Children With Pneumococcal AOM and Pneumococcal Carriage during CAAP in Brasov, Romania

	AOM N = 68	CAAP N = 88	P Value
Age months (mean ± SD)	24.2 (18.6)	27.0 (28.5)	0.456
Male, n (%)	39 (57.4)	47 (53.4)	0.623
Rural area, n (%)	13/29 (44.8)	51/88 (57.9)	0.218
Crowded house*	10/16 (62.5)	43/83 (51.8)	0.432
Passive smoking	14/23 (60.8)	51/83 (61.4)	0.95

*Crowdedness was defined as >5 persons in 1 room.
SD indicates standard deviation.

Tabel 6 Distribuția serotiurilor S. pneumoniae izolate la copii cu otită acută medie versus portaj nozofaringian pneumococic pe parcursul pneumoniei dobândite comunitar de tip alveolar în Brașov, România (după Lixandru RI, Falup-Pecurariu C, Bleotu L, Mercas A, Leibovitz E, Dagan R, Greenberg D, Falup-Pecurariu O. *Streptococcus pneumoniae Serotypes and Antibiotic Susceptibility Patterns in Middle Ear Fluid Isolates During Acute Otitis Media and Nasopharyngeal Isolates During Community-acquired Alveolar Pneumonia in Central Romania. Pediatr Infect Dis J. 2017 Feb;36(2):151-154. doi: 10.1097/INF.0000000000001379. PMID: 27798547*)

TABLE 2. Serotypes Distribution of S. pneumoniae Isolated From Children With AOM Versus Pneumococcal NP Carriage During CAAP in Brasov, Romania

Serotype, n (%)	AOM N = 68	CAAP N = 88	P value
19F	24 (35.3)	15 (17.0)	0.009
23F	11 (16.2)	20 (22.7)	0.309
14	9 (13.2)	5 (5.7)	0.102
6B	8 (11.8)	17 (19.3)	0.202
19A	5 (7.4)	6 (6.8)	0.897
6A	2 (2.9)	4 (4.5)	0.605
3	0 (0)	2 (2.3)	0.505
15B/C	0 (0)	2 (2.3)	0.505
Other	9 (13.2)	17 (19.3)	0.312
PCV7 serotypes*, n (%)	53 (77.9)	60 (68.2)	0.176
PCV13 serotypes†, n (%)	61 (89.7)	72 (81.8)	0.168
Non-PCV13 serotypes, n (%)	7 (10.3)	16 (18.2)	0.168

*4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F.

†1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F and 23F.

PCV7 indicates 7-valent pneumococcal conjugate vaccine.

Pneumococul poate fi implicat și în apariția pericarditei (Feinstein Y, Falup-Pecurariu O, Mitrică M, Berezin EN, Sini R, Krimko H, Greenberg D. Acute pericarditis caused by *Streptococcus pneumoniae* in young infants and children: three case reports and a literature review. *Int J Infect Dis.* 2010 Feb;14(2):e175-8 doi: 10.1016/j.ijid.2009.03.033).

Pericardita purulentă este rară la toate categoriile de vârstă, dar este asociată cu mortalitate crescută, în ciuda unei antibioterapii adecvate și a drenajului agresiv. În era preantibioterapiei *S. pneumoniae* era cel mai comun patogen al pericarditei purulente la copii. În cele de față vom scrie trei cazuri de pericardită cu *S. pneumoniae* la copii anterior sănătoși.

Cazul 1

Un copil în vârstă de 20 luni, de sex feminin, s-a prezentat la camera de urgență de la Centrul Medical al Universității Soroka, Israel, în iarna anului 2007, cu o temperatură de 40 grade Celsius, dispnee, paloare și hipotonie. Era complet conștient și tahicardic (220 bătăi/minut). Bătăile cardiace erau diminuate și venele cervicale erau congestionate, hepatomegalia a fost evidențiată. O radiografie toracică a evidențiat o siluetă cardiacă crescută și un studiu electrocardiografic a arătat supradenivelarea segmentului ST în derivațiile aVF, DI și DII. Ecocardiografia a evidențiat o cantitate crescută de lichid pericardic cu disfuncția severă a ventriculului stâng și colapsul atrului și ventriculului drept. S-a efectuat o pericardocenteză de urgență, cu evacuarea a 60-70 ml de lichid închis, hemoragic. Ulterior, s-a inserat un tub de drenaj evacuând încă 280 ml de fluid. Analiza lichidului pericardic a arătat un număr de leucocite de $72.81 \times 10^9/l$, cu un procent de 77% celule segmentate, proteine totale 5g/dl, nivel de glucoză de 2 mg/dl, și LDH cu valoare de 4752 U/l. *S. pneumoniae* serotipul 6A a fost evidențiat în lichidul pericardic și în sânge. Serotiparea s-a realizat prin reacția quellung. Cultura lichidului cefalorahidian a fost sterilă. *S. pneumoniae* izolat a avut o concentrație de penicilină inhibitorie minimă (MIC) de 0.25 μg/ml. Pacienta a fost externată după 14 zile, în stare generală bună și stabilă hemodinamic.

Cazul 2

Un băiat în vârstă de 10 ani, s-a prezentat la camera de urgență a Spitalului de Copii, Brașov, România în iarna anului 2008 cu febră, inapetență, fatigabilitate și paloare. Istoricul medical al acestuia a fost nesemnificativ. Boala a debutat cu cinci zile înaintea prezentării, cu inapetență și fatigabilitate. La examinarea clinică pacientul era palid și febril (39 grade Celsius), hepatomegalia fiind evidențiată. Era complet conștient dar tahicardic (193

bătăi/minut) și cu vene jugulare dilatate. Radiografia toracică a evidențiat o siluetă cardiacă mărită. Electrocardiografia a evidențiat tahicardie paroxistică supraventriculară iar ecocardiografia a arătat prezența unei cantități crescute de lichid pericardic. S-a efectuat pericardocenteză cu evacuarea a 40-50 ml de lichid hemoragic închis. S-a inițiat antibioterapie sistemică cu ceftazidimă și tratament cu furosemid intravenos, continuate până la momentul externării. *S. pneumoniae* a fost izolat din lichidul pericardic în timp ce culturile din sânge și lichid cefalorahidian au fost sterile. Pacientul a fost externat după 10 zile cu stare generală bună și stabil hemodinamic.

Cazul 3

Un copil în vârstă de 7 luni, de sex feminin, s-a prezentat la departamentul de urgență al Spitalului Unversitar Santa Casa, Sao Paulo, Brazilia, în toamna anului 2007, pentru dispnee cu debut de trei zile. Cu două zile înaintea prezentării a fost diagnosticată cu infecție de căi respiratorii superioare (IACRS). Radiografia toracică a evidențiat o siluetă cardiacă mărită, iar electrocardiografia a fost normală. Numărul leucocitelor a fost $37.7 \times 10^9/l$ cu un procent de 47% granulocite. Proteina C reactivă a fost 32.3 mg/dl. Ecocardiografia a evidențiat o cantitate crescută de lichid pericardic. Pericardocenteza s-a realizat în a doua zi de la internare, evacuându-se 60 ml de lichid hemoragic purulent. Un tub de drenaj a fost inserat evacuându-se încă 400ml lichid. *S. pneumoniae* serotipul 23F cu o concentrație de penicilină inhibitorie minimă (MIC) de 0.125 $\mu g/ml$ a fost izolat din culturile din sânge.

La acest studiu (Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. *Pneumonia* (Nathan) 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y) s-a luat în discuție faptul că pneumonia comunitară afectează 34-40 copii la 1000 de copii sub vârsta de 5 ani în condițiile în care nu se vaccina împotriva pneumococului (218). Diagnosticul de pneumonie se stabilește în marea majoritate a țărilor pe baza anamnezei, semnelor clinice a valorilor hemoleucogramei, a testelor biochimice și CRP, dar mai ales ale imaginii radiologice(219).

Definiția pneumoniei dată de către OMS se bazează în întregime pe baza semnelor clinice, trebuind să acopere toate țările lumii într-o manieră cât mai uniformă (220).

Există de asemenea câteva probleme legate de diagnosticul etiologic al pneumoniilor, hemoculturile nu sunt obținute în mod uzual, iar puncția pleurală se realizează doar în condiții extrem de rare, ea de obicei fiind apanajul studiilor (221). De aceea am considerat a fi importantă compararea practicilor de diagnostic și tratament ale pneumoniei în diferite centre europene comparativ cu ghidurile în vigoare.

Chestionarul dezvoltat împreună cu colegi din alte 7 țări europene a fost trimis în 22 centre de pediatrie din 20 de țări.

Un număr de 86.3% dintre destinatarii chestionarului au răspuns la întrebări și au trimis răspunsul lor. Toate cele 19 centre au confirmate că utilizau protocoale locale de diagnostic și tratament ale pneumoniei comunitare. Ghidul OMS-ului era utilizat de către 3 centre, alte 5 centre utilizau și ghiduri locale, 5 utilizau ghiduri naționale, 3 ghiduri ale OMS dar și naționale împreună, 2 alte ghiduri și un centru trata conform altor protocoale.

Radiografia cu condensare pulmonară ca și criteriu de diagnostic al pneumoniei era utilizat în toate centrele, iar 2 dintre acestea considerau acest lucru a fi criteriu absolut.

Toate centrele recomandau radiografia pulmonară la toți copiii care urmau a fi spitalizați, 13 centre efectau radiografie la cei la care o suspectau patologia, 4 numai dacă internau copiii, 2 numai când suspicionau un eșec terapeutic sau apariția vreunei

complicații.

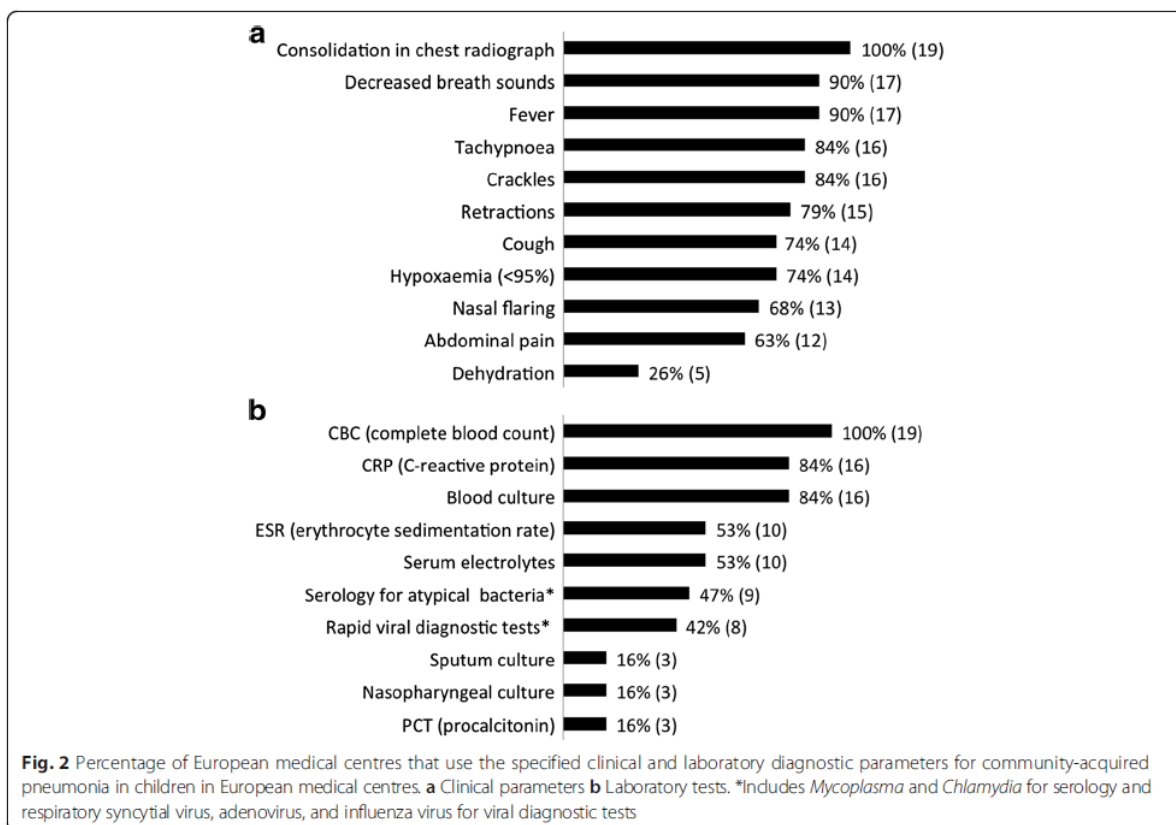


Figura 1 Procentul de centre medicale europene care utilizează parametrii specifici de diagnostic clinic și paraclinic de pneumonie dobândită comunitară la copii. a parametrii clinici, b parametrii de laborator * include serologia pentru *Mycoplasma* și *Chlamydia*, iar pentru virusul respirator sincițial, adenovirus și virusul influenza, teste de diagnostic viral. (după Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. *Pneumonia* (Nathan). 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y. PMID: 28702285; PMCID: PMC5469201.)

În ceea ce privește semnele clinice și cele paraclinice sunt redate în Figura 1.

Semnele clinice comparativ cu ghidurile acceptate sunt notate în tabelul de mai jos.

Tabel 7 Semne clinice în comparație cu ghidurile acceptate (*reprodus după Usonis V, Ivaskевичius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. Pneumonia (Nathan). 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y*)

Table 1 Comparison of clinical signs and symptoms to determine community-acquired pneumonia (CAP) severity among different European medical centres compared with the United States [13], United Kingdom [1] and World Health Organization [14] guidelines

Sign or symptom	Guidelines			European study ^a
	PIDS-IDSA	BTS ^b	WHO	
Tachypnoea	✓ ^c	✓	✓ ^c	✓
Chest recession/indrawing/retractions	✓	✓	✓	✓
Nasal flaring	✓			✓
Cough			✓ ^d	✓
Grunting	✓		✓ ^d	
Apnoea	✓			
Fever		✓		✓
Difficulty breathing/respiratory distress	✓		✓ ^d	✓
Low oxygen saturation	✓ (<90 %)	✓ (<92 %)	✓ ^d (<90 %)	✓ (<95 %)
Abdominal pain				✓
General danger signs (inability to drink, vomiting, lethargy, convulsions)			✓ ^d	
Altered mental status	✓			
Cyanosis			✓ ^d	
Auscultation revealing absent breath sounds with a dull percussion note or crackles		✓	✓	✓

PIDS-IDSA Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America, BTS British Thoracic Society, WHO World Health Organization

^aIndications for hospitalisation, only when >50 % of medical centres reported using the parameter

^bRecommendations for bacterial pneumonia

^cRespiratory rate adjusted by age

^dSymptom of severe CAP

Cumulând toate datele am obținut următorul Tabel 8:

Tabel 8 Comparație între indicațiile de diagnostic a pneumoniei dobândite comunitar pentru pacienții internați în centrele medicale europene, din Statele Unite ale Americii și Marea Britanie. CAP Comunity acquired penumonia Pneumonia dobândită comunitar (*reprodus după Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. Pneumonia (Nathan). 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y. PMID: 28702285; PMCID: PMC5469201.*)

Table 2 Comparison of inpatient diagnostic test indications for community-acquired pneumonia (CAP) across different European medical centres compared with United States [13] and United Kingdom [1] guidelines

Diagnostic test	Guideline		European study
	PIDS-IDSA	BTS	
Chest radiograph	Yes	Yes	Yes
Complete blood count	Yes ^a	No	Yes
Acute phase reactants (CRP, serum PCT, ESR)	Yes ^{a,b}	No	Yes
Sputum samples for bacteria	Yes	Not specified	Yes ^c
Tests for <i>Mycoplasma</i> , <i>Chlamydia</i> ^d	Yes	Yes	Yes ^c
Tests for respiratory viruses ^d	Yes	Yes	Yes ^c
Blood culture	Yes	Yes	Yes
Nasopharyngeal secretions	Not specified	Yes	Yes ^c
Serum electrolytes	Not specified	Not specified	Yes
Not recommended	Urinary antigen detection for pneumococcus Diagnostic testing for <i>Chlamydia pneumoniae</i>	Urinary Antigen detection for pneumococcus Acute phase reactants	
Other	Tracheal aspirates for gram stain and culture	Pleural fluid for microscopy, culture and antigen detection	

With the exception of a chest radiograph, the World Health Organization does not mention use of specific inpatient diagnostic testing and is excluded from the table

PIDS-IDSA Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America, BTS British Thoracic Society, ESR erythrocyte sedimentation rate, CRP C-reactive protein, PCT procalcitonin

^aDiagnostic test recommended only for those with severe disease

^bAcute phase reactants cannot be used as the sole determinant to distinguish between viral and bacterial causes of CAP

^cTests recommended in <50 % of medical centres

^dSerology, polymerase chain reaction, culturing and other tests are available but no specific test is recommended

Tratamentul antibiotic variază între țările europene însă nu în mare măsură.

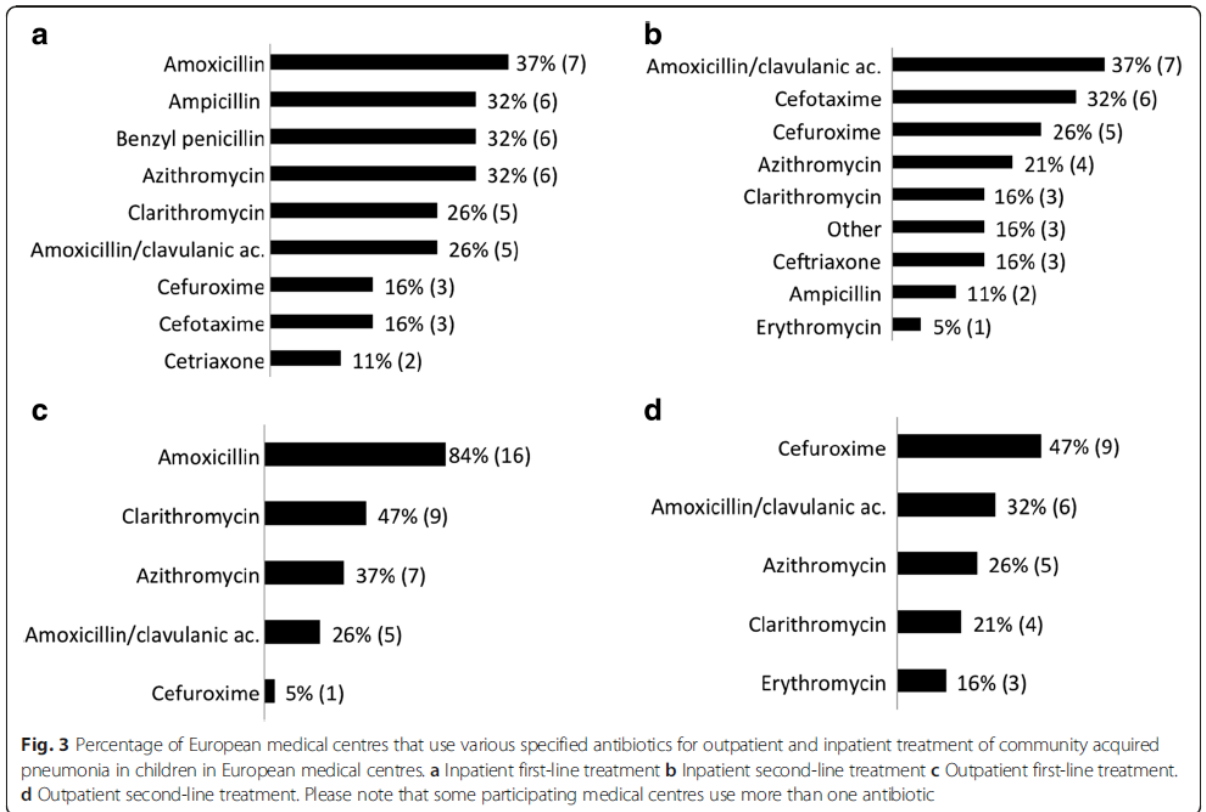


Figura 2 Variația tratamentului antibiotic între țările europene. A. tratament de elecție pentru pacienții internați, b. tratament de linia a 2-a pentru pacienții internați, c. tratament de elecție pentru pacienții tratați la domiciliu, d. tratament de linia a 2-a pentru pacienții tratați la domiciliu. Anumite centre medicale folosesc mai multe antibiotice (*reprodus după Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. Pneumonia (Nathan). 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y*)

Sumarizând tratamentul empiric în centrele europene comparativ cu ghidurile am obținut la data studiului observațional următoarele linii de tratament ale pneumoniei comunitare.

Tabel 9 Linii de tratament ale pneumoniei comunitare (*reprodus după Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. Pneumonia (Nathan). 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y*)

Table 3 Comparison of antimicrobial empiric therapy recommendations for children with community-acquired pneumonia across different European medical centres compared with the United States [13], United Kingdom [1] and World Health Organization [14] guidelines

Site of care	Empiric therapy Guideline			European study ^a
	PIDS-IDSa	BTS	WHO	
Outpatient				
First-Line	Amoxicillin	Amoxicillin	Amoxicillin	Amoxicillin Clarithromycin Azithromycin
Second Line	Macrolides ^b Azithromycin Clarithromycin Erythromycin	Macrolides ^c Erythromycin Azithromycin Clarithromycin Co-amoxiclav ^d Cefaclor Ceftriaxone	Not Specified	Cefuroxime Amoxicillin/Clavulanic ac.
Inpatient				
First-line	Ampicillin Penicillin G	Amoxicillin	Ampicillin (or benzylpenicillin) and Gentamicin	Amoxicillin Ampicillin Benzyl penicillin Azithromycin
Second-Line	Cephalosporin ^e β-lactam ^f Vancomycin or Clindamycin ^g	Macrolides ^c Co-amoxiclav Cefuroxime Cefotaxime Ceftriaxone	Gentamicin Cloxacillin Ceftriaxone	Amoxicillin/Clavulanic ac. Cefotaxime

PIDS-IDSa Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America, BTS British Thoracic Society, WHO World Health Organization
^aOnly drugs recommended in >30 % of the medical centres are shown, none of these drugs were recommended in >50 % of medical centres
^bFor atypical pathogens, preferred and alternative agents for specific pathogens are extensively listed in [4]
^cFor children in whom *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* are significant considerations
^dFor pneumonia associated with influenza
^eFor hospitalised infants and children who are not fully immunised
^fIn addition to β-lactam therapy if *Staphylococcus aureus* suspected

Ce a dovedit studiul nostru? În primul rând o mare variabilitate în ceea ce privește diagnosticul și tratamentul pneumoniei comunitare în rândul țărilor europene care au participat. Centrele Europene par mai degrabă a adapta ghidurile existente, inclusiv cele la nivel național, la cerințele locale. Există însă și aspecte care reunesc aceste ghiduri mai ales în ceea ce privește evaluarea radiologică a unei pneumonii. OMS-ul nu recomandă teste de laborator pentru evaluarea pneumoniei, însă atât ghidurile americane cât și cele europene utilizează marker-ii inflamatori pentru diagnosticul unei pneumonii. Ghidurile americane stipulau utilizarea testelor rapide, mai ales pentru gripă și pentru RSV, în vreme ce OMS-ul nu cere acest lucru. De asemenea, ghidul British Toracic Society (BTS) stipula o tură de aerosoli pentru a face diagnosticul diferențial între bronșiolite și pneumonie.

Dacă analizăm tratamentul, linia întâi este dată de amoxicilină. Acest lucru are o deosebită importanță, cunoscut fiind cu cât antibioticul prescris este mai restrâns, cu atât șansele de reducere a rezistenței la antibiotice sunt mai mari.

Linia a doua de antibiotice utilizată de către centrele europene a fost similară cu ghidurile PIDS-IDSa precum și cu ghidul britanic și constă din macrolide.

În ceea ce privește practica de antibioterapie la pacienții internați, în marea majoritate a centrelor europene se administrează ca primă linie ampicilina/amoxicilina, ceea ce este din nou conform recomandărilor ghidurilor.

Ghidurile american și britanic subliniază importanța tratamentului etiologic în vreme ce OMS-ul vorbește mai ales de pneumonia stafilococică.

La copiii mai mari ghidurile IDSA PIDS și BTS stipulează că copiii peste 5 ani pot primi și tratament cu macrolide, dar și doxicilină și chiar fluorochinolone (222). Durata de timp a tratamentului este de asemenea un subiect de mare discuție, întrucât nu este stipulat în nici un fel de ghid durata de tratament. În acest moment este acceptată ca durată de tratament o medie de șapte zile de tratament.

Interesant este și faptul că atât ghidul BTS ului dar și cel al OMS-ului stipulează că mai ales la copiii sub 2 ani va trebui să facem o tură de aerosoli și dacă simptomatologia cedează, atunci este mai degrabă virală și nu trebuie internat copilul (223).

Implementarea vaccinurilor pneumococice la nivelul lumii, dar mai ales a vaccinului împotriva *H.influenzae* a dus la o scădere dramatică a numărului de cazuri de pneumonie datorată acestor doi patogeni (224). Cu toate acestea, singurul ghid care subliniază acest fapt este ghidul american IDSA-PIDS (225).

Ceea ce însă este evident și din ghidul britanic BTS este că vaccinarea cu PCV a determinat o scădere de 30% per total a cazurilor de pneumonie (226).

Deși suntem diferiți, abordarea europeană este relativ unitară, având la baza diagnosticului pneumoniei radiografia pulmonară, marker-ii de inflamație dar și abordarea terapeutică cel puțin din perspectiva ghidurilor este relativ similară.

Exact în continuarea acestui studiu am dorit să analizăm cum arată diferențele între centrele europene legat de imaginile radiologice ale sugariilor și copiilor cu pneumonie comunitară (227).

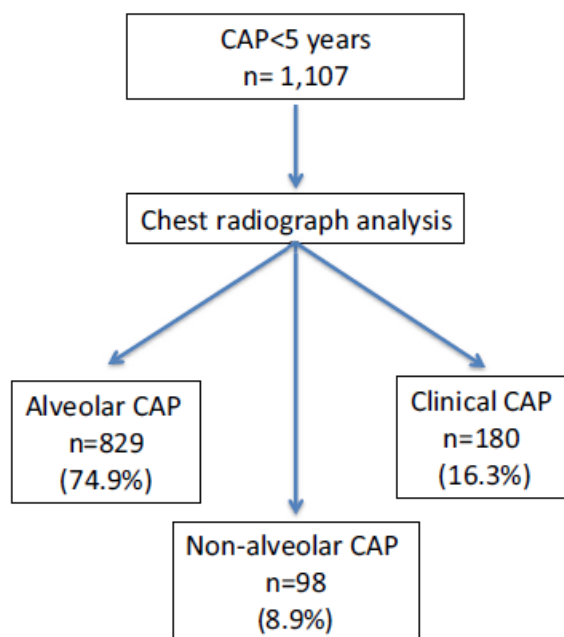


Fig. 1 Distribution of radiographic presentations of children < 5 years of age with community-acquired pneumonia (CAP)

Figura 3 Tipuri de imagini radiologice identificate la copii cu vârsta < 5 ani diagnosticați cu pneumonie comunitară. CAP Community acquired pneumonia Pneumonia comunitară (reprodusă după Falup-Pecurariu OG, Diez-Domingo J, Esposito S, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Usonis V, Greenberg D; CAP-PRI. Clinical and laboratory features of children with community-acquired pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. *Eur J Pediatr.* 2018 Jul;177(7):1111-1120. doi: 10.1007/s00431-018-3165-3).

Radiografiile au fost interpretate separat de către pediatru și de către radiologi și s-a considerat definiția radiologică a pneumoniei dată de către OMS.

Dacă analizăm criteriile demografice care diferențiază pneumonia comunitară de cea non alveolară, observăm că vârsta mai mare este în favoarea pneumoniei alveolare, tindem să spitalizăm în toate centrele europene mai mult pneumoniile alveolare față de cele non alveolare, iar din punctul de vedere al valorii leucocitelor, cea peste 15000/mm³ și CRP peste 5 mg/dl ca valori de diagnostic definitiv pentru pneumoniile alveolare.

Tabel 10 Caracteristici demografice, clinice, paraclinice la copii <5 ani cu modificări radiologice sugestive pentru pneumonia comunitară (*reprodus după Falup-Pecurariu OG, Diez-Domingo J, Esposito S, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Usonis V, Greenberg D; CAP-PR1. Clinical and laboratory features of children with community-acquired pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. Eur J Pediatr. 2018 Jul;177(7):1111-1120. doi: 10.1007/s00431-018-3165-3. Epub 2018 May 11*)

Table 1 Demographic, clinical, and laboratory characteristics of pediatric patients < 5 years with radiographically distinct presentations of community-acquired pneumonia (CAP)

	Alveolar CAP	Non-alveolar CAP	Clinical CAP	P
N	829 (74.9%)	98 (8.9%)	180 (16.3%)	
Age in months mean ± SD	24.7 ± 16.8	20.4 ± 14.8	23.4 ± 15.5	0.038 ^α
Male % (n)	55.9(463)	53.1(52)	52.2(94)	NS
Hospitalization % (n)	84.6(701)	80.6(79)	78.3(141)	0.054 ^β
Mean temperature (°C) ± SD (n)	38.9 ± 1.1(633)	38.8 ± 0.9(81)	38.6 ± 1.0(94)	0.006 ^β
Respiratory rate ± SD (n)	44.6 ± 13.9 (712)	44.3 ± 10.9(91)	44.6 ± 11.9(110)	NS
O ₂ saturation % (n)	94.8 ± 3.7(823)	94.6 ± 4.1(97)	95.7 ± 3.3(178)	0.0021 ^{β, γ}
WBC				
N	744	82	138	
Mean (cells/mm ³) ± SD	17,760 ± 8540.6	15,160 ± 5997	13,180 ± 5892	<0.001 ^{α, β, γ}
% ≥ 15,000 (n)	57.7 (429)	47.6 (39)	30.4 (42)	<0.001 ^{β, γ}
% ≥20,000 (n)	36.2 (269)	22 (18)	10.1 (14)	<0.001 ^{α, β, γ}
ANC (cells/mm ³) ± SD (n)	11.5 ± 7.5(684)	9.2 ± 5.1(134)	7.3 ± 4.7(80)	<0.001 ^{α, β, γ}
CRP				
Mean* (μg/L) ± SD (n)	83.9 ± 103.6(254)	43.0 ± 76.6(54)	55.4 ± 69.5(14)	0.008 ^α
% ≥70 (n)	97 (38.2%)	9 (16.7%)	4 (28.6%)	0.006 ^α
Mean ESR (mm/h) ± SD (n)	46.2 ± 31.0(107)	45.4 ± 34.9(13)	34.3 ± 29.4(3)	NS

NS not significant

^α Alveolar vs. non-alveolar CAP

^β Alveolar vs. clinical CAP

^γ Non-alveolar vs. clinical CAP

*After log transformation

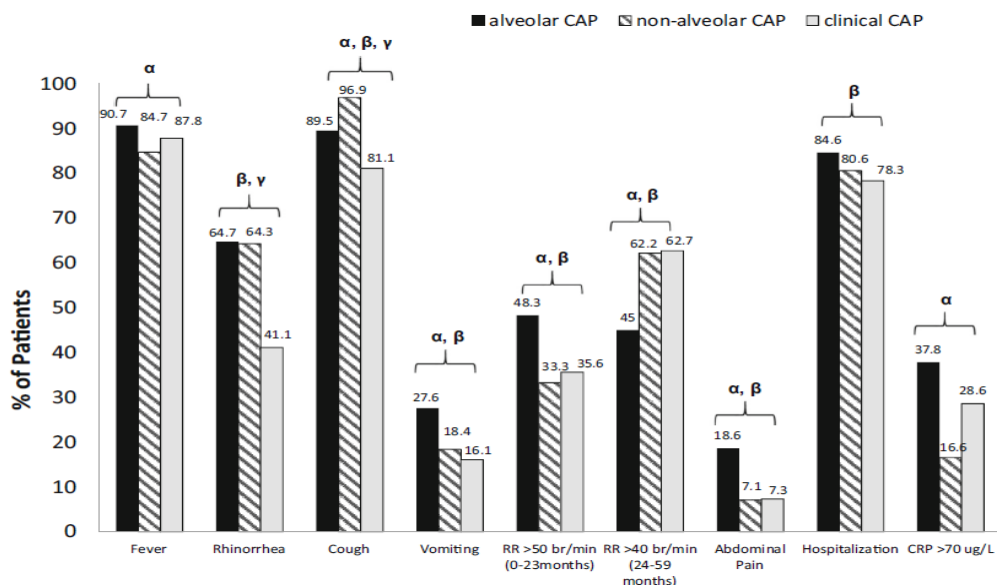


Figura 4 (*reprodus după Falup-Pecurariu OG, Diez-Domingo J, Esposito S, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Usonis V, Greenberg D; CAP-PR1. Clinical and laboratory features of children with community-acquired pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. Eur J Pediatr. 2018 Jul;177(7):1111-1120. doi: 10.1007/s00431-018-3165-3. Epub 2018 May 11. PMID: 29748750. preluată după OG Falup Pecurariu, Diez Domingo J, Esposito S et al. Clinical and laboratory features of children with community aquiered pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. Eur J of Pediatr 2018 Jul; 177(7): 1111-1120, https://doi.org/10.1007/s00431-018-3165-3*)

Dacă analizăm manifestările clinice în cadrul grupelor analizate în centrele europene vom vedea câteva diferențe remarcabile. Dintre cei 1107 pacienți înrolați în studiu, 829 (74,9%) au întrunit criteriile radiologice de pneumonie alveolară, cea non alveolară a fost diagnosticată în 8.9% dintre cazuri, iar diagnostic clinic s-a stabilit la 180 de cazuri.

Copiii care au avut pneumonie alveolară au fost semnificativ mai mari decât cei cu formă non alveolară. Pacienții cu pneumonie alveolară au avut mereu febră mai mare, au prezentat CRP-ul cu valoare mai mare comparativ cu cei cu non alveolară, la fel și valoarea leucocitelor. Vărsăturile și diareea au fost mai frecvent întâlnite în grupul de pneumonie alveolară. Rinoreea pe de altă parte, a fost găsită la ambele grupe, însă în cea alveolară mai puțin. Tusea a fost frecvent întâlnită în grupul de pneumonie non alveolară, urmat de cea alveolară, și cea clinică.

În momentul în care am împărțit populația de studiu în două grupe, sub 24 de luni și între 24-59 luni, am obținut date importante, febra înaltă este mai degrabă apanajul vârstei de 25-59 luni și mai puțin înaltă, la cei între 0-24 luni. Tusea nu a reprezentat un element clinic de îngrijorare pentru pacienții cu vârsta de peste 24 de luni.

La ajustarea ritmului respirator, între 0-23 luni cu valoare limită de 50 respirații/minut, iar peste 24 luni limită număr respirații de 40 respirații/minut, cei cu pneumonie alveolară au avut o rată mai mare de tahipnee față de cei cu pneumonie non alveolară și față de cei cu cea clinică. Cu fiecare an de viață crește probabilitatea de a face pneumonie alveolară la o rată calculată de 2% pentru populația studiată. Vaccinul pneumococic are de aceea un efect protector față de această rată de creștere. Dacă saturația oxigenului coboară sub 94% probabilitatea de a avea pneumonie alveolară este de 50% față de saturații ale oxigenului care depășesc 94%.

Tabel 11 Caracteristici clinice și de laborator la pacienții cu vârsta între 0-23 luni diagnosticați cu pneumonie dobândită comunitară în corelație cu modificările radiologice. CAP Community acquired pneumonia Pneumonia comunitară (*reprodus după Falup-Pecurariu OG, Diez-Domingo J, Esposito S, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Usonis V, Greenberg D; CAP-PRI. Clinical and laboratory features of children with community-acquired pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. Eur J Pediatr. 2018 Jul;177(7):1111-1120. doi: 10.1007/s00431-018-3165-3*)

Table 2 Clinical and laboratory characteristics of pediatric patients 0-23 months old with CAP in relation to radiographic categorizations

	Alveolar CAP	Non-alveolar CAP	Clinical CAP	P
Fever > 38.5 °C% (n/N)	87.8 (380/433)	78.3 (47/60)	86.8 (79/91)	NS
Rhinorrhea% (n/N)	70.0 (303/433)	65.0 (39/60)	44.0 (40/91)	<0.001 ^β , 0.018 ^γ
Cough % (n/N)	90.1 (390/433)	96.7 (58/60)	76.9 (70/91)	<0.001 ^β , 0.002 ^γ
< 92 O ₂ sat % (n/N)	20.9 (90/431)	16.9 (10/60)	13.2 (12/91)	NS
Respiratory rate ≥ 50 breaths/min% (n/N)	48.3 (184/381)	33.3 (18/54)	35.6 (21/59)	0.055 ^α , 0.093 ^β
Abdominal pain% (n/N)	3.5 (15/427)	5.0 (3/60)	2.2 (2/91)	NS
Vomiting% (n/N)	24.9 (108/433)	10.0 (6/60)	15.4 (14/91)	0.016 ^α , 0.068 ^β
Vaccination complete % (n/N)	67.1 (235/350)	59.2 (29/49)	55.6 (15/27)	NS
Hospitalization% (n/N)	87.8 (380/433)	85 (51/60)	84.6 (77/91)	NS
CRP > 70% (n/N)	27.1 (29/107)	11.8 (4/34)	60.0 (3/5)	0.032 ^γ
Respiratory rate				
mean(breaths/min) ± SD	49.8 ± 13.8	46.6 ± 10.7	47.2 ± 11.7	NS
Median (breaths/min)	48	47	44	
Min-max	18-94	28-72	24-72	
n	381	54	59	
Days of fever				
Mean ± SD	3.6 ± 3.7	2.7 ± 2.2	2.7 ± 1.9	<0.001 ^{α,β}
Median	2	1	2	
Min-max	0-30	0-10	0-9	
n	371	46	76	
WBC				
Mean (cells/μl) ± SD	17,480 ± 8347.4	15,750 ± 6372.4	13,390 ± 5550.5	<0.001 ^B
Median	16,690	14,790	12,720	
Min-max	2000-56,100	4790-32,700	1820-33,020	
n	393	53	78	
ANC				
Mean (cells/mm ³) ± SD	9.9 ± 6.6	8.6 ± 5.3	6.6 ± 4.1	<0.001 ^B
Median (cells/mm ³)	8.7	8.1	5.9	
Min-max	0.47-40	0.877-25.1	0.69-19.69	
n	372	51	74	
CRP				
Mean (μg/L) ± SD	53 ± 71	37.4 ± 86	108.8 ± 94.2	NS
Median (μg/L)	24.7	15.6	12.7	
Min-max	0.2-424.9	1.1-499.2	5-212.5	
n	107	34	5	

NS not significant

^α Alveolar vs. non-alveolar CAP

^β Alveolar vs. clinical CAP

^γ Non-alveolar vs. clinical CAP

Acest tabel reflectă rezultatele studiului nostru pan European. Se crede că durerea abdominală din pneumonie este determinate de limfadenopatia mezenterică (228).

Pentru etiologia virală pledează însă rinoreea, tusea și rata respirațiilor (229).

În cadrul studiului nostru valoarea mare a leucocitelor, CRP-ului, VSH-ului precum și a neutrofilelor, este predictor de pneumonie alveolară și este în deplină concordanță cu studiile de specialitate (229).

Putem specula și din studiul nostru că, la copiii cu vârsta de sub 24 luni, este vorba și de o co-infecție viro bacteriană, cunoscut fiind faptul că la această vârstă avem o implicare mai marcată a virusului respirator sincițial, comparativ cu celelalte vârste, este cunoscut că virusurile deschid calea bacteriilor.

În cadrul studiului nostru avem însă câteva limitări și anume un număr neomogen de cazuri provenite din diferitele centre, care au participat la acest studiu. În plus fiecare centru considerat, avea implementate ghidurile sale de diagnostic și mai ales de tratament, ceea ce a făcut mai dificilă interpretarea unor date. Deși nu a făcut parte din scopul studiului nostru, implementarea vaccinării cu PCV la nivel național are un efect cert de protecție pe care ar trebui să îl apreciem în viitoarele noastre studii.

Un alt aspect important de care trebuie să ținem cont este acela că nu s-au recoltat suficiente hemoculturi pentru a susține etiologia pneumoniilor alveolare diagnosticate clinic, radiologic dar și pe baza parametrilor paraclinici.

Ce a adus însă nou cercetarea noastră, faptul că pneumonia alveolară, cea non alveolară și cea clinică sunt entități distincte, din punct de vedere radiologic, clinic dar și paraclinic.

În aceeași notă a cercetării legate de infecțiile la copil, am participat la consorțiul European de studiu al implicării stafilococului auriu în pneumoniile copilului, Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004. Epub 2016 Apr 21. PMID: 27107685.

Studiul a dorit să analizeze implicarea stafilococului auriu alături de PVL și MRSA ca și factori de gravitate în pneumonia comunitară la copil (230).

Tabel 12 Implicarea stafilococului auriu alături de PVL și MRSA ca factori de gravitate în pneumonia comunitară la copil (*reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired Staphylococcus aureus infections in children: a prospective European multicentre study. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004*).

Table 1
Demographic and clinical characteristics of patients with community-acquired invasive *Staphylococcus aureus* infections

Characteristic	Value
Male gender (n = 152)	88 (58%)
Age (years) (n = 152)	7.2 ± 5.4
Underlying disease (n = 152) ^a	42 (28%)
Hospital stay (days) (n = 152)	19.1 ± 13.6
Severe infection (n = 152)	26 (17%)
Mortality (n = 152)	3 (2%)
PVL positive (n = 118)	22 (18.6%)
MRSA (n = 152)	12 (7.8%)
Fever at admission (°C) (n = 124)	38.6 ± 1.1
CRP at admission (mg/dL) (n = 147)	10.1 ± 12.4
WBC at admission (cells/mm ³) (n = 149)	12 885 ± 702
Isolate in blood (n = 152) ^b	83 (54.6%)
Interventional procedures (n = 152)	77 (49%)

Data are presented as n (%) or mean ± SD.

CRP, C-reactive protein; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; PVL, Pantone-Valentine leukocidin; WBC, white blood cell count.

^a Underlying disease included long-term intravascular access device (n = 12), chronic or acute predisposing diseases (n = 13), oncologic diseases (n = 11) and neonates (n = 6).

^b Primary bacteraemia and bacteraemia resulting from superficial (soft tissue infections or other superficial seated infection) or deep-sited (pneumonia, osteomyelitis, pyomyositis) infections.

Pacienți pediatrici cu vârste cuprinse între 0-16 ani din 13 centre pediatrice, din 7 țări europene, care au fost diagnosticați cu pneumonie comunitară cu stafilococ au fost înrolați.

Deși stafilococul este cunoscut a produce leziuni minore la nivelul tegumentelor, este responsabil și de boli extrem de severe, precum afecțiunile articulare osteomielite și artritele septice la copil (231). În ultimul deceniu, din cauza creșterii numărului de cazuri de MRSA mai ales pentru continentul American, precum și al cazurilor severe de afecțiuni, a devenit necesară cunoașterea acestei problem și la nivel European (232).

Studiul s-a desfășurat pe o perioadă de doi ani (1.10.2012-30.09.2014) și a folosit un chestionar standardizat, atât din punct de vedere al întrebărilor demografice, dar și al analizelor paraclinice efectuate iar determinarea PVL s-a efectuat în laborator din Madrid

Spania. Infecția invazivă a fost etichetată atunci când se determina stafilococ dintr-o parte sterilă a corpului.

Studiul a pornit de la rezultatele relativ conflictuale care susțineau că MRSA-ul ar fi după unele gravitatea infecției, după altele nu ar avea nici un fel de impact asupra gravității cazurilor (233).

Panton Valentine Leucocidina (PVL) care este de fapt o toxină formatoare de pori și căreia i s-ar datora complicațiile infecțiilor stafilococice, a fost determinate în cadrul studiilor noastre (234). Din cei 152 de copii care au fost incluși în studiu 88 au fost băieți. Țările participante au fost Spania, Israel, Lituania, Grecia, Germania, Italia, România. Raportul băieți fete a fost de 1.4 la 1, iar media de vârstă a fost de 7.4 ani.

Prezint în continuare datele rezultate din studiul nostru pan European.

Tabel 13 Caracteristicile demografice ale populației studiate (*reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired Staphylococcus aureus infections in children: a prospective European multicentre study. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004. Epub 2016 Apr 21. PMID: 27107685.*)

Table 2
Characteristics of severe versus nonsevere community-acquired invasive *Staphylococcus aureus* infections

Characteristic	Severe (n = 26)	Nonsevere (n = 126)	p	OR (95% CI)
Male/female	13/13	75/51	0.37	0.68 (0.29–1.58)
Age (years), mean ± SD	6.6 ± 5.9	7.3 ± 5.4	0.66	
Underlying disease ^d	8/26 (30.8%)	34/126 (27%)	0.71	1.18 (0.47–2.96)
Hospital stay (days), mean ± SD	30.4 ± 19.5	15.6 ± 10.3	<0.001	
WBC at admission (cells/mm ³), mean ± SD	11 716 ± 6598	13 041 ± 7080	0.39	
PVL positive ^a	9/25 (36%)	13/93 (15%)	0.012	3.46 (1.27–9.43)
MRSA	3/26 (11.5%)	10/125 (8%)	0.44	1.50 (0.38–5.88)
CRP at admission (mg/dL), mean ± SD	17.5 ± 11.2	8.8 ± 12.1	0.002	
Leucopenia at admission (<4000)	3/24 (12.5%)	4/125 (3.2%)	0.08	4.32 (0.98–20.71)
Leucopenia at admission (<3000)	3/24 (12.5%)	2/125 (1.6%)	0.03	8.79 (1.38–55.77)
Fever at admission (°C), mean ± SD	38.6 ± 0.8	38.6 ± 1.2	0.69	
Pneumonia	13/26 (50.0%)	13/126 (10.3%)	<0.001	8.7 (3.33–22.7)
Bone and joint infections	11/26 (42.3%)	74/126 (58.7%)	0.16	0.55 (0.23–1.28)
Primary bacteraemia	3/26 (11.5%)	22/126 (17.5%)	0.46	0.61 (0.17–2.23)
Result of SSTI bacteraemia ^b	0/26 (0%)	13/126 (10.3%)	0.13	0.16 (0.01–2.75)
Isolate in blood ^c	17/26 (65.4%)	66/126 (52.4%)	0.18	(0.75–4.35)

CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; OR, odds ratio; PVL, Panton-Valentine leukocidin; SSTI, skin and soft tissue infection; WBC, white blood cell count.

^a Data regarding PVL presence were available in 118 samples.

^b Bacteraemia resulting from soft tissue infections or other superficial seated infection.

^c Primary bacteraemia and bacteraemia resulting from superficial (soft tissue infections or other superficial seated infection) or deep-sited (pneumonia, osteomyelitis, pyomyositis) infections.

^d Risk factors for infection and/or invasive disease.

Tabel 14 Date legate de severitatea evoluției pneumoniei (*reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired Staphylococcus aureus infections in children: a prospective European multicentre study. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004*)

	Severe (n=26)	Non severe (n=126)	p	OR (IC 95%)
Male /female	13/13	75/51	0.37	0.68 (0.29 – 1.58)
Age (years)	6.6±5.9	7.3±5.4	0.66	
Underlying disease	8/26 (30.8%)	34/125 (27.2%)	0.71	1.18 (0.47 – 2.96)
Mean hospital stay (days)	30.4±19.5	15.6±10.3	<0.01	
WCC on admission	11716±6598	13041±7080	0.39	
PVL(+)	9/25 (36%)	13/93 (15%)	0.012	3.46 (1.27 – 9.43)
MRSA	3/26 (11.5%)	10/125 (8%)	0.44	1.50 (0.38 – 5.88)
CRP on admission (mg/dl)	17.5±11.2	8.8±12.1	0.002	
Leucopenia on admission (<4000)	3/24 (12.5%)	4/125 (3.2%)	0.08	4.32 (0.98 – 20.71)
Leucopenia on admission (<3000)	3/24 (12.5%)	2/125 (1.6%)	0.03	8.79 (1.38 – 55.77)
Fever on admission (⁰ C)	38.6±0.8	38.6±1.2	0.69	
Pneumonia	13/26 (50.0%)	13/126 (10.3%)	<0.001	8.7 (3.33 - 22.7)
Bone and joint infections	11/26 (42.3%)	74/126 (58.7%)	0.16	0.55 (0.23 – 1.28)
Primary bacteremia	3/26 (11.5%)	22/126 (17.5%)	0.46	0.61 (0.17 – 2.23)
Secondary to SSTI bacteremia ^o	0/26(0%)	13/126 (10.3%)	0.13	0.16 (0.01 – 2.75)
Isolate in blood ^{oo}	17/26 (65.4%)	66/126 (52.4%)	0.18	1.8 (0.75 – 4.35)

Tabel 15 Caracteristicile PVL + versus PVL- (reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004)

Table 3
Characteristics of PVL-positive versus PVL-negative infections

Characteristic	PVL positive (n = 22)	PVL negative (n = 96)	p	OR (95% CI)
Sex, M/F	13/9	60/36	0.76	0.86 (0.34–2.23)
Age (years), mean ± SD	7.9 ± 4.9	7.1 ± 5.4	0.61	
Underlying disease	4/22 (18.2%)	28/96 (29.5%)	0.43	1.87 (0.58–6.06)
Hospital stay (days), mean ± SD	24.3 ± 16.1	18.0 ± 12.0	0.042	
WBC at admission (cells/mm ³), mean ± SD	11 723 ± 6715	13 185 ± 70508	0.38	
Severe infection	9/22 (40.9%)	16/96 (16.7%)	0.012	3.46 (1.27–9.43)
MRSA ^a	4/22 (18.2%)	6/96 (6.25%)	0.07	3.33 (0.85–13.02)
CRP at admission (mg/dL), mean ± SD	14.4 ± 13.3	9.8 ± 13.5	0.16	
Leucopenia (<3000)	2/22 (9.5%)	2/96 (2.1%)	0.15	4.84 (0.64–36.55)
Fever at admission (°C), mean ± SD	38.9 ± 0.9	38.4 ± 1.2	0.05	
Pneumonia	7/22 (31.8%)	17/96 (17.7%)	0.15	2.17 (0.76–6.13)
Bone and joint infections	12/22 (54.5%)	58/96 (60.4%)	0.61	1.27 (0.50–3.24)
Primary bacteraemia	4/22 (18.2%)	10/96 (10.4%)	0.31	1.91 (0.54–6.78)
Resulting from SSTI bacteraemia ^b	2/22 (9.1%)	6/96 (6.2%)	0.64	1.50 (0.28–7.99)
Isolate in blood ^c	14/22 (63.6%)	50/96 (52.1%)	0.33	1.6 (0.62–4.19)

CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; OR, odds ratio; PVL, Pantón-Valentine leukocidin; SSTI, skin and soft tissue infection; WBC, white blood cell count.

^a Three MRSA isolates were not tested for PVL genes.

^b Bacteraemia resulting from soft tissue infections or other superficial seated infection.

^c Primary bacteraemia and bacteraemia resulting from superficial (soft tissue infections or other superficial seated infection) or deep-sited (pneumonia, osteomyelitis, pyomyositis) infections.

Tabel 16 Caracteristicile MSSA versus MRSA la populația pediatrică studiată (reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004).

	MRSA (n=13)	MSSA (n=139)	P	OR (IC 95%)
Male/female	6/4	79/60	0.141	2.64 (0.70 – 10.0)
Age (years)	6.6±6.0	7.2±5.4	0.76	
Underlying disease	5/13 (38.5%)	37/139 (27.0%)	0.38	1.69 (0.52 – 5.49)
Mean hospital stay (days)	21.2±10.6	17.8±13.6	0.31	
WCC on admission	15167±11828	12633±6416	0.46	
PVL(+)	4/10 (40.0%)	18/108 (16.7%)	0.07	3.33 (0.85 – 13.02)
Severe infection	3/13 (23.1%)	23/139 (16.7%)	0.70	1.5 (0.38 – 5.9)
CRP on admission (mg/dl)	15.3±10.9	9.7±12.4	0.12	
Leucopenia (<3000)	1/13 (7.7%)	4/139 (3%)	0.37	2.73 (0.28 – 26.32)
Fever on admission (⁰ C)	39.0±1.1	38.6±1.1	0.20	
Pneumonia	6/13 (46.2%)	20/139 (14.5%)	0.004	5.06 (1.54 – 16.61)
Bone and joint infections	5/13 (38.5%)	79/139 (57.3%)	0.19	0.47 (0.15 – 1.50)
Primary bacteremia	2/13 (15.4%)	23/139 (16.7%)	0.9	0.90 (0.19 – 4.38)
Secondary to SSTI bacteremia ^o	1/13 (7.7%)	12/138 (91.4%)	1.0	0.88 (0.11 – 7.32)
Isolate in blood ^{oo}	7/13 (53.8%)	76/139 (55.1%)	0.93	0.95 (0.30 – 2.98)

Tabel 17 Analiza multi variată (reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004)

	Adjusted OR (95% CI)	p
PVL(+)	4.69 (1.39 – 15.81)	0.01
MRSA	4.30 (0.68– 28.95)	0.13
Pneumonia	13.39 (4.11 – 43.56)	0.00
Leucopenia <3000 on admission	18.3 (1.3 -259.9)	0.03

În cadrul studiului nostru, care a abordat strict infecțiile severe stafilococice comunitare, 17% dintre pacienți au avut infecții severe și s-au înregistrat 2 decese.

Infecțiile severe datorate stafilococului au început a fi raportate în urmă cu peste 15 ani pornind de la raportările de pacienți gravi pediatrici din Statele Unite ale Americii (235).

În studiul nostru 18.6% dintre tulpinile izolatele comunitare aveau pozitivă PVL-ul, ceea ce pare a fi în acord cu literatura de specialitate. PVL-ul este cunoscută de aproximativ 100 de ani ca fiind o exotoxină a stafilococului, care atacă celulele leucocitele distrugându-le și determinând necroza tisulară. Datele europene arată ca până la 2% dintre pacienți au PVL + (236). Pentru gena USA-300 studiul European a determinat o prevalență crescută a acestuia mai ales pentru tulpinile MRSA față de cele MSSA 98% vs 42%.

Prezența PVL pozitiv în studiul nostru este un factor de risc independent, așa cum este el determinat în analiza multi-variata.

Studiile conflictuale legate de gena PVL ca factor de virulență apărute în decursul timpului au determinat ca aceasta să lase loc a numeroase interpretări, dar mai ales se consideră că ea este un factor de agravare (237). Leucopenia severă a fost, în schimb, asociată gravității bolii, atât în analiza uni cât și în cea multivariată din cadrul studiului nostru.

Al treilea factor independent asociat cu gravitatea a fost prezența pneumoniei la pacienții pediatrici, atât în analiza uni cât și în cea multivariată. La copii pneumonia stafilococică a fost multă vreme considerată a complica pneumonia pneumococică, dar recent s-a observat că ea complică și infecțiile virale în mod special cu virus gripal (238).

Este important de asemenea de reținut, că pneumoniile secundare stafilococice apar mai ales în condițiile de diseminare septică a stafilococului care este localizat la nivelul unei articulații sau a osului, mai ales când este asociat unei tromboze septice determinate de afectare de oase pelvine (239). Aproximativ 10% din totalul cazurilor noastre au avut MRSA, iar acest lucru nu s-a asociat cu gravitatea afecțiunii pneumococice.

În ceea ce privește tratamentul antibiotic în lumina prezenței/absenței PVL-ului vancomicina și TMP-SMX nu au efect. De aceea ghidurile recente sugerează adăugarea unui antibiotic care ar putea inhiba producerea PVL, însă acest lucru nu s-a observat în studiul nostru (240). Cu toate acestea în cazurile grave se va asocia imunoglobuline iv.

Limitele studiului au fost legate de faptul că înrolarea pacienților a fost determinată de medicul curant al pacienților din fiecare țară. Pe de altă parte, principalele puncte forte au fost reprezentate de faptul că a fost un studiu multi centric European prospectiv.

Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, Chicin G, Baci G, Pitic C, Cara AC, Neculau AE, Burlea M, Brinza IL, Schnell CN, Sas V, Lupu VV, François N, Swinnen K, Borys D. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-inferiority trial. *Hum Vaccin Immunother.* 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001.

În cadrul unui studiu multicentric din România, s-a evaluat efectul administrării antitermicelor paracetamol și ibuprofen după administrarea vaccinurilor conținute la data respectivă pe schema Națională de imunizare, la care s-a adăugat PCV-10 valent (241).

Repartiția grupelor de studiu este arătat în continuare.

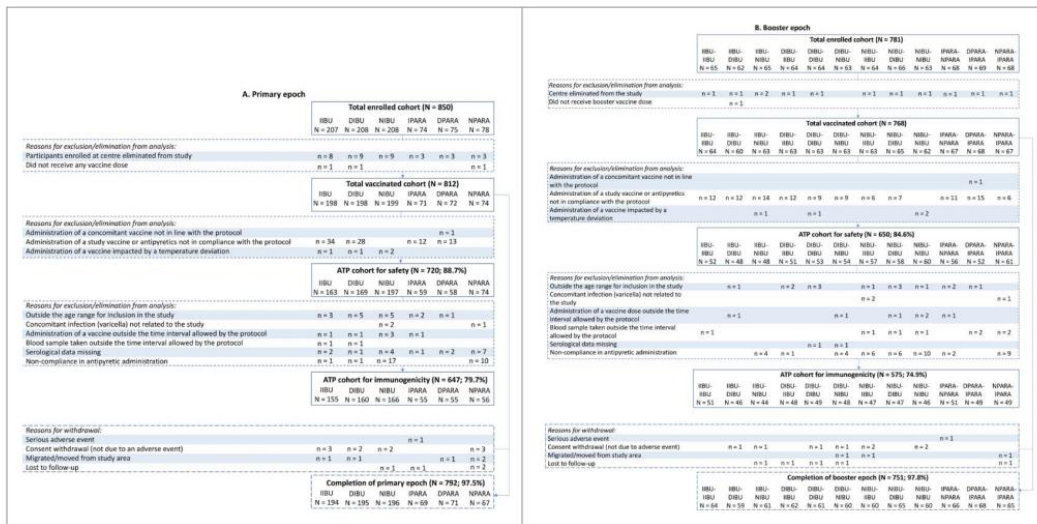


Figure 1. Participant flow chart. Footnote: **Primary vaccination:** PHiD-CV and DTPa-(HBV-IPV/Hib at 3, 4, and 5 months of age, with the following prophylactic antipyretic regimen: IIBU, immediate ibuprofen; DIBU, delayed ibuprofen; NIBU, no ibuprofen; IPARA, immediate paracetamol; DPARA, delayed paracetamol; NPARA, no paracetamol. **Booster vaccination:** PHiD-CV and DTPa-(HBV-IPV/Hib at 12–15 months of age, with the following prophylactic antipyretic regimen: at primary vaccination: immediate ibuprofen, and at booster: immediate (IIBU-IIBU), delayed (IIBU-DIBU) or no ibuprofen (IIBU-NIBU); at primary vaccination: delayed ibuprofen, and at booster: immediate (DIBU-IIBU), delayed (DIBU-DIBU) or no ibuprofen (DIBU-NIBU); at primary vaccination: no ibuprofen, and at booster: immediate (NIBU-IIBU), delayed (NIBU-DIBU) or no ibuprofen (NIBU-NIBU); immediate paracetamol at primary vaccination and no paracetamol at booster (IPARA-NPARA); delayed paracetamol at primary vaccination and immediate paracetamol at booster (DPARA-IPARA); no paracetamol at primary vaccination, and immediate paracetamol at booster (NPARA-IPARA). ATP, according-to-protocol; N, number of participants.

Figura 5 Grupurile de studiu (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, et al. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-inferiority trial. Hum Vaccin Immunother. 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001*)

Împărțirea grupelor de studiu a fost: cu administrare imediată, la 4-6 h după vaccinare și fără antitermic.

Tabel 18 - Împărțirea grupelor de studiu cu administrare imediată, la 4-6 h după vaccinare și fără antitermic. (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, et al. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-inferiority trial. Hum Vaccin Immunother. 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001*)

Table 1. Serotype-specific pneumococcal and protein D antibody responses with pairwise group comparisons for the ibuprofen groups, at one month post-dose three (ATP cohort for immunogenicity).

Serotype	Proportion of children with antibody concentrations $\geq 0.2 \mu\text{g/mL}$			Difference in % $\geq 0.2 \mu\text{g/mL}$	
	IIBU N = 154	DIBU N = 158	NIBU N = 164	NIBU minus IIBU 98.25% CI (LL; UL)	NIBU minus DIBU 98.25% CI (LL; UL)
Vaccine serotypes					
1	100 (97.5; 100)	100 (97.6; 100)	99.4 (96.6; 100)	-0.62 (-4.52; 3.17)	-0.62 (-4.52; 2.91)
4	99.3 (96.2; 100)	100 (97.6; 100)	99.4 (96.5; 100)	0.06 (-3.94; 4.38)	-0.63 (-4.57; 2.91)
5	100 (97.5; 100)	100 (97.6; 100)	99.4 (96.5; 100)	-0.64 (-4.63; 3.19)	-0.64 (-4.63; 2.92)
6B	84.0 (77.0; 89.6)	87.1 (80.8; 91.9)	84.7 (78.1; 90.0)	0.69 (-9.40; 10.99)	-2.38 (-12.02; 7.22)
7F	99.4 (96.4; 100)	100 (97.7; 100)	100 (97.8; 100)	0.65 (-2.70; 4.71)	0.00 (-3.34; 3.48)
9V	99.3 (96.2; 100)	100 (97.6; 100)	98.7 (95.5; 99.8)	-0.58 (-5.05; 3.82)	-1.27 (-5.66; 2.32)
14	100 (97.5; 100)	99.4 (96.4; 100)	99.4 (96.5; 100)	-0.65 (-4.68; 3.15)	0.00 (-4.08; 4.12)
18C	99.3 (96.2; 100)	99.4 (96.4; 100)	98.7 (95.5; 99.8)	-0.58 (-5.04; 3.85)	-0.62 (-5.08; 3.54)
19F	100 (97.5; 100)	98.7 (95.4; 99.8)	99.4 (96.5; 100)	-0.63 (-4.60; 3.14)	0.67 (-3.40; 5.20)
23F	91.9 (86.3; 95.7)	89.2 (83.3; 93.6)	92.0 (86.7; 95.7)	0.08 (-7.66; 8.10)	2.73 (-5.30; 11.04)
Vaccine-related serotypes					
6A	44.2 (36.0; 52.6)	47.4 (39.2; 55.6)	43.3 (35.4; 51.4)	NA	NA
19A	53.1 (44.6; 61.4)	52.0 (43.7; 60.1)	40.1 (32.4; 48.2)	NA	NA

Valoarea titrului de anticorpi GMC-ul calculat în legătură și cu administrarea de ibuprofen pentru cele trei grupe de studiu. Ar fi de asemenea important de menționat și faptul că la data studiului România avea pe schema națională de imunizare în partea primară trei doze de vaccin, cărora li s-a adăugat și vaccinul PCV-10 valent.

Tabel 19 Valoarea titrului de anticorpi GMC-ul calculat în legătură cu administrarea de ibuprofen pentru cele trei grupe de studiu (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, et al. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-inferiority trial. Hum Vaccin Immunother. 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001*)

Serotype	Antibody GMCs			Antibody GMC ratio	
	Antibody GMC (95% CI)			Antibody GMC ratio	
	IPARA N = 55	DPARA N = 55	NPARA N = 56	IPARA / NPARA 95% CI (LL ; UL)	DPARA / NPARA 95% CI (LL ; UL)
Vaccine serotypes ($\mu\text{g/mL}$)					
1	1.32 (1.04; 1.67)	1.38 (1.09; 1.74)	1.95 (1.64; 2.32)	0.68 (0.51; 0.90)	0.71 (0.53; 0.94)
4	1.57 (1.21; 2.04)	1.95 (1.63; 2.32)	2.59 (2.07; 3.24)	0.61 (0.43; 0.85)	0.75 (0.56; 1.00)
5	1.95 (1.53; 2.48)	2.36 (1.89; 2.94)	3.05 (2.53; 3.68)	0.64 (0.47; 0.86)	0.77 (0.58; 1.03)
6B	0.49 (0.34; 0.69)	0.42 (0.28; 0.62)	0.72 (0.51; 1.02)	0.67 (0.41; 1.09)	0.58 (0.35; 0.97)
7F	2.18 (1.75; 2.70)	2.45 (2.01; 2.99)	2.95 (2.37; 3.69)	0.74 (0.54; 1.00)	0.83 (0.62; 1.11)
9V	1.67 (1.30; 2.13)	1.82 (1.48; 2.23)	2.40 (1.87; 3.10)	0.69 (0.49; 0.98)	0.76 (0.55; 1.05)
14	3.44 (2.55; 4.62)	4.12 (3.21; 5.29)	5.17 (4.20; 6.36)	0.66 (0.46; 0.95)	0.80 (0.58; 1.10)
18C	3.08 (2.29; 4.15)	4.08 (3.15; 5.29)	4.96 (3.75; 6.55)	0.62 (0.42; 0.93)	0.82 (0.57; 1.20)
19F	4.95 (3.74; 6.54)	5.20 (3.94; 6.85)	6.98 (5.48; 8.88)	0.71 (0.49; 1.02)	0.75 (0.52; 1.07)
23F	0.77 (0.54; 1.09)	0.74 (0.51; 1.08)	1.00 (0.73; 1.36)	0.77 (0.48; 1.22)	0.74 (0.46; 1.20)
Vaccine-related serotypes ($\mu\text{g/mL}$)					
6A	0.11 (0.08; 0.16)	0.12 (0.08; 0.17)	0.19 (0.13; 0.27)	NA	NA
19A	0.15 (0.11; 0.22)	0.17 (0.12; 0.25)	0.25 (0.17; 0.36)	NA	NA
Protein D (ELU/mL)					
	1109.64 (876.9; 1404.1)	1348.55 (1048.2; 1734.9)	1667.91 (1401.9; 1984.4)	0.67 (0.50; 0.89)	0.81 (0.60; 1.09)

Footnote: PHiD-CV and DTPa-(HBV)-IPV/Hib at 3, 4, and 5 months of age, with the following prophylactic antipyretic regimen: IPARA, immediate paracetamol; DPARA, delayed paracetamol; NPARA, no paracetamol; N = maximum number of children with available results; LL, lower limit; UL, upper limit; 95% CI, standardized asymptotic confidence interval; GMC, geometric mean antibody concentration; %, percentage of participants with anti-pneumococcal serotype-specific antibody concentrations $\geq 0.2 \mu\text{g/mL}$; NA, not available; ATP, according-to-protocol. The exclusion of 0 from the 95% CI of difference between groups, and the exclusion of 1 from the 95% CI of antibody GMC ratios were used to highlight potential group differences (**bold**).

Ceea ce a arătat studiul de față este că administrarea de ibuprofen nu are nici un fel de impact asupra imunogenității vaccinului, cel puțin a celui 10 valent, nici pentru seria primară de imunizare de la 2, 4, 6 luni și nici pentru rapel la 12 luni.

Titrul de anticorpi peste valoarea GMC-ului cel puțin pentru PCV-10 a fost atinsă de către toți copiii din grupele de vârstă studiate la o lună postvaccinare, iar pentru rapel acestea s-au menținut înalte.

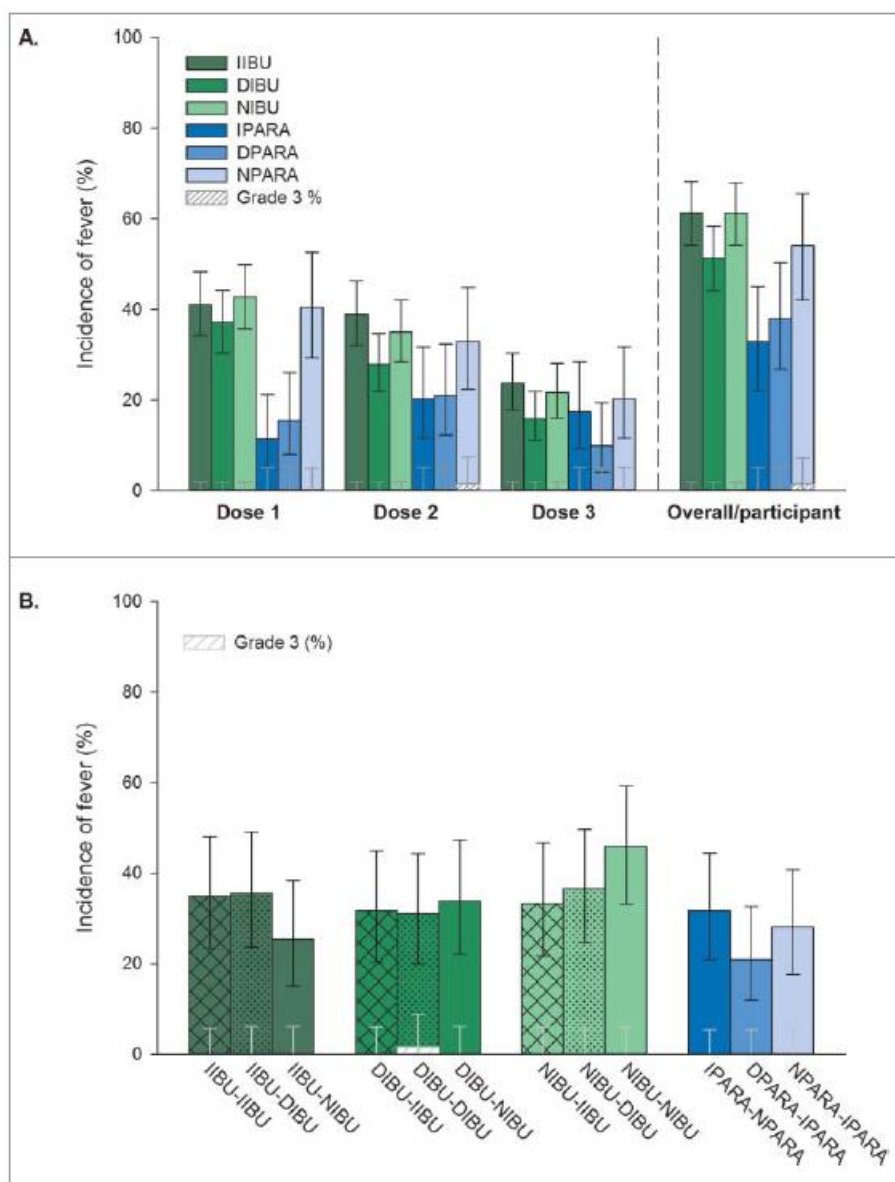


Figura 6 Incidența febrei post administrare primară și post rapel (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, et al. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-inferiority trial. Hum Vaccin Immunother. 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001*

Pentru studiul nostru rezultatele au demonstrat că paracetamolul pare a avea același tip de comportament pentru primele vaccinuri, în ceea ce privește seroprotecția și seroprevalența; pentru rapel se constată un trend discret descrescător, fără a avea un impact major asupra seroprotecției și seroprevalenței vaccinale.

Studiul nostru a fost în concordanță cu cele legate de administrarea PCV-13 cu

paracetamol, care au demonstrat o modificare a răspunsului imun atunci când paracetamolul este administrat imediat după vaccinarea cu PCV-13 (242). Pentru ca lucrurile să devină un pic mai complicate, la data trialurilor clinice legate de 4CMenB la care se administra profilactic paracetamol nu s-a determinat vreun impact al administrării acestuia asupra imunogenității vaccinului (243).

Modul diferit prin care se comportă cele două preparate folosite ca și antitermice, respectiv paracetamolul și ibuprofenul, este de fapt legat de mecanismele lor de acțiune, care sunt complet separate (244). Ibuprofenul blochează ciclooxigenaza (COX): COX-1 și COX 2, în vreme ce paracetamolul blochează activitatea COX-3 din creier și de la nivel medular (245).

Mai mult, pare că antiinflamatoarele non steroidine sunt cele care determină o scădere a producției de anticorpi prin afectarea celulelor B, prin inhibarea maturării proteinei 1 din limfocitele B (246).

Paracetamolul, pe de altă parte, inhibă producția de catalizator de mieloperoxidaze, interferând în mod direct cu imunogenitatea (247). Paracetamolul, exact la fel ca și ibuprofenul, străbate bariera hematoencefalică și acționează rapid asupra receptorilor serotoninergici și a celor opioergici (248). Mai mult, paracetamolul generează niște metaboliți activi care acționează asupra anandaminei care modifică răspunsul celulelor T, ceea ce are efect asupra imunogenității vaccinului (249).

Studiul a avut câteva elemente de importanță, printre care designul său, toate combinațiile posibile de ibuprofen dar și cele de paracetamol care au fost luate în discuție, adaptarea sa la schema națională.

Mai puțin ser a fost însă pentru a studia cu adevărat activitatea opsonofagocitară.

Studiul a fost însă adaptat perfect necesităților țării noastre și mai mult, a dovedit că nu este necesar să administrăm nici un antitermic postvaccinal.

Capitolul II. Evoluție și realizări profesionale

II.1 Arii de interes științific în legătură cu studiile legate de infecțiile la copil

II.1.a. Cercetarea legată de infecția gripală, vaccinare și politici de vaccinare anti gripală

Unul dintre articolele de impact care au evaluat atitudinea medicilor de familie din Europa privind vaccinarea antigripală a fost publicat împreună cu un colectiv european în anul 2016 (250). Vaccinarea antigripală la nivel de Consiliu al Europei se dorește a avea o acoperire de peste 75% în rândul persoanelor peste 65 de ani și la nivel de populație de copii cel puțin cu afecțiuni cronice și cu vârsta de peste 6 luni. Politica de vaccinare antigripală este extrem de diferită de-a lungul Europei (251).

Principalele tulpini ale virusului gripal responsabile de gripă, sunt tulpinile A și B, iar tulpina A este cea care determină pandemiile. Mis match-urile care apar și care determină scăderea performanței vaccinului antigripal sunt datorate dificultăților de a prevedea tulpinile circulante în anul respectiv, mai ales în condițiile existenței până în urmă cu 2-3 ani a unui vaccin trivalent doar.

Între 25-100 milioane de persoane sunt infectate anual cu gripă la nivel european (252). Dintre acestea, aproximativ 38500 de decese survin la cei cu vârsta de peste 65 de ani. Costul anual rezultat din absenteism de la locul de muncă, spitalizare datorată complicațiilor, deces se ridică la 6-14 miliarde de Euro anual (253).

Tipurile de vaccin care se găseau în Marea Britanie la data scrierii articolului sunt redată în cadrul tabelului de mai jos.

Tabel 20 Tipuri de vaccinuri sezoniere pentru gripa disponibile în Marea Britanie (sezonul 2015-2016) (*reprodus după Kassianos G, Blank P, Falup-Pecurariu O, Kuchar E, Kyncl J, De Lejarazu RO, Nitsch-Osuch A, van Essen GA. Influenza vaccination: key facts for general practitioners in Europe-a synthesis by European experts based on national guidelines and best practices in the United Kingdom and the Netherlands. Drugs Context. 2016 Aug 3;5:212293. doi: 10.7573/dic.212293*).

Table 1. Types of seasonal influenza vaccine available in the UK (2015–2016 season).

Vaccine type	Number of strains	Brand name	Route of administration	Age range ^a					
				≥6 months	2-17 years ^a	≥3 years	≥5 years	≥18 years	≥60 years
Inactivated influenza vaccine	Trivalent	Agrippal	Intramuscular	√	√	√	√	√	√
		Influvac	Intramuscular	√	√	√	√	√	√
		Imuvac	Intramuscular	√	√	√	√	√	√
		Inactivated influenza vaccine (split virion) BP	Intramuscular	√	√	√	√	√	√
		Optaflu	Intramuscular	-	-	-	-	√	√
		Enzira	Intramuscular	-	-	-	-	√	√
		Intanza	Intradermal	-	-	-	-	-	√
Inactivated influenza vaccine	Quadrivalent	Fluarix Tetra	Intramuscular	-	-	√	√	√	√
Live attenuated influenza vaccine	Quadrivalent	Fluenz Tetra	Intranasal	-	√	-	-	-	-

^aAge range 2-17 years, inclusive.

Note: Product availability can vary between countries: each country will need to check local authority recommendations and indications for the vaccines that are available to them and adapt this table according to the manufacturer's SmPC.

Este important să notificăm definiția ILI și a gripei propriu zise, definiții care în contextual pandemiei actuale sunt de dorit a fi respectate. Există o mare suprapunere a simptomatologiei între gripă și celelalte virusuri inclusiv Corona virusurile. De asemenea se cunoaște modelul de transmitere al infecției virale care este în general toamna spre sfârșit.

În cadrul articolului se face o trecere în revistă a principalelor categorii de pacienți care trebuiau să fie vaccinate, cu atenție deosebită asupra principalelor grupe de risc respectiv vârstnicii, personalul sanitar, copiii și bolnavii cronici.

De asemenea, se făcea o trecere a revistă a metodelor de notificare pentru vaccinare în cadrul populației, păstrarea evidențelor celor vaccinați precum și a felului în care se realiza transportul și stocarea vaccinului.

În continuarea acestui studiu pan European a fost cel care evalua politicile și credințele legate de vaccinarea antigripală a personalului sanitar din șase țări europene.

Personalul sanitar, nu numai medicii, joacă un rol deosebit de important în implementarea și promovarea vaccinării, cu atât mai mult a celei antigripale (254).

Odată cu creșterea numărului de persoane care refuză vaccinarea, acest lucru a devenit important de susținut de către întreg personalul sanitar (255). Se demonstrează că personalul sanitar este mai înclinat să răspundă la chestionare anonime considerând vaccinarea o decizie informată conform normativelor psihologice recente (256). Vaccinarea antigripală se face și datorită unor factori motivaționali externi, dar și datorită unor factori interni care determină aceste decizii.

În cadrul grupului s-a creat un model de încurajare a vaccinării, care a avut mai multe puncte importante, dorindu-ne să încurajăm participarea la vaccinarea dar mai ales la susținerea acesteia din proprie voință și convingere fără presiune externă (257).

Datele din șase țări europene au fost colectate de-a lungul a doi ani de studiu (Octombrie 2014 - decembrie 2015) și 2541 de participanți au completat în mod voluntar aceste chestionare. Au fost analizate motivele de acceptare ale vaccinării anti gripale, datele demografice ale participanților la acest studiu, implicarea în stimularea participării la vaccinare a populației, acesta din urmă cuprinzând sentimentele de cunoaștere a subiectului, de dorință de implicare, de autonomie, atunci când vorbim despre vaccinare în mod special despre cea antigripală (257)

A fost studiat în evoluție și comportamentul respondenților, dacă s-au vaccinat în sezonul 2015 și cum au abordat sezonul 2016.

Tabel 21 Datele demografice ale probelor (*reprodus după Vallée-Tourangeau G, Promberger M, Moon K, Wheelock A, Sirota M, Norton C, Sevdalis N. Motors of influenza vaccination uptake and vaccination advocacy in healthcare workers: Development and validation of two short scales. Vaccine. 2018 Oct 22;36(44):6540-6545. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.08.025*)

Table 1
Demographic characteristics of the samples.

Variable	Country						Total
	BGR	CZE	GBR	POL	ROU	XKX	
<i>N</i>	485	518	80	772	155	466	2476
<i>Age</i>							
<i>M</i>	49.38	50.98	49.81	48.63	35.84	45.5	47.92
<i>SD</i>	7.47	12.16	9.78	11.53	9.39	9.2	10.98
Minimum	23	18	20	23	19	22	18
Maximum	70	81	67	83	62	63	83
18–29 years (%)	3.30	6.58	5.56	6.74	37.01	4.29	7.42
30–49 years (%)	50.93	35.78	38.89	52.20	55.19	64.59	50.65
50–65 years (%)	45.57	48.94	54.17	33.68	7.79	31.12	37.71
Over 65 years (%)	0.21	8.70	1.39	7.38	0.00	0.00	4.22
<i>Gender</i>							
Female (<i>n</i>)	393	382	77	516	117	304	1789
Male (<i>n</i>)	92	136	2	256	37	162	685
Missing	0	0	1	0	1	0	2
<i>Profession</i>							
General practitioner	478	451	1	675	0	174	1779
Specialist physician	0	8	0	0	49	38	95
Nurse	2	13	76	84	73	224	472
Other	5	46	3	13	33	30	130

Tabel 2 Datele statistice, corelații și coeficientul alfa pentru MoVac-flu și MovAd (reprodus după Vallée-Tourangeau G, Promberger M, Moon K, Wheelock A, Sirota M, Norton C, Sevdalis N. *Motors of influenza vaccination uptake and vaccination advocacy in healthcare workers: Development and validation of two short scales. Vaccine. 2018 Oct 22;36(44):6540-6545. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.08.025*)

Table 2
Descriptive statistics, correlations, and coefficient alpha for MoVac-flu and MovAd sentiments.

Sentiments	M	SD	Skewness	Kurtosis	alpha	Correlations								
						1	2	3	3.2	4.1	4.2			
<i>MoVac-flu sentiments</i>														
1. Importance	5.45	1.74	-1.09	0.31	0.90									
2. Impact	5.86	1.42	-1.51	2.23	0.87	0.81 ^{***}								
3. Feeling of Knowledge	6.06	1.32	-1.74	0.68	0.86 ^b	0.72 ^{***}	0.79 ^{***}							
3.2 Depth of Knowledge ^c	5.61	2.11	-1.25	0.30		0.02	0.06 ^{**}	0.12 ^{***}						
<i>4. Autonomy</i>														
4.1. Choice ^d	6.23	1.48	-1.64	1.45	0.16	0.19 ^{***}	0.23 ^{***}	0.29 ^{***}	0.09 ^{***}					
4.2. Extrinsic Pressure	3.07	2.27	0.60	-1.19	0.33 ^d	0.05 [*]	-0.04 [*]	-0.01	-0.24 ^{***}	0.02				
4.3. Intrinsic Motivation	5.74	1.96	-1.46	0.74	-0.07 ^d	0.048 ^{***}	0.53 ^{***}	0.44 ^{***}	0.05 [*]	0.21 ^{***}	-0.04 [*]			
<i>MovAd sentiments</i>														
1. Importance	5.87	1.30	-1.32	1.30	0.83									
2. Impact	5.67	1.20	-1.04	1.02	0.84	0.67 ^{***}								
3. Feeling of Knowledge	5.85	1.25	-1.38	1.73	0.90	0.62 ^{***}	0.54 ^{***}							
<i>4. Autonomy</i>														
4.1. Choice	5.17	1.96	-0.82	-0.52	0.31	0.25 ^{***}	0.17 ^{***}	0.21 ^{***}						
4.2. Extrinsic Pressure	3.16	2.16	0.55	-1.15	0.27 ^d	0.07 ^{***}	0.07 ^{***}	0.03		0.18 ^{***}				
4.3. Obligation	5.85	1.55	-1.44	1.37	0.30 ^d	0.66 ^{***}	0.51 ^{***}	0.56 ^{***}		0.16 ^{***}	0.05 [*]			

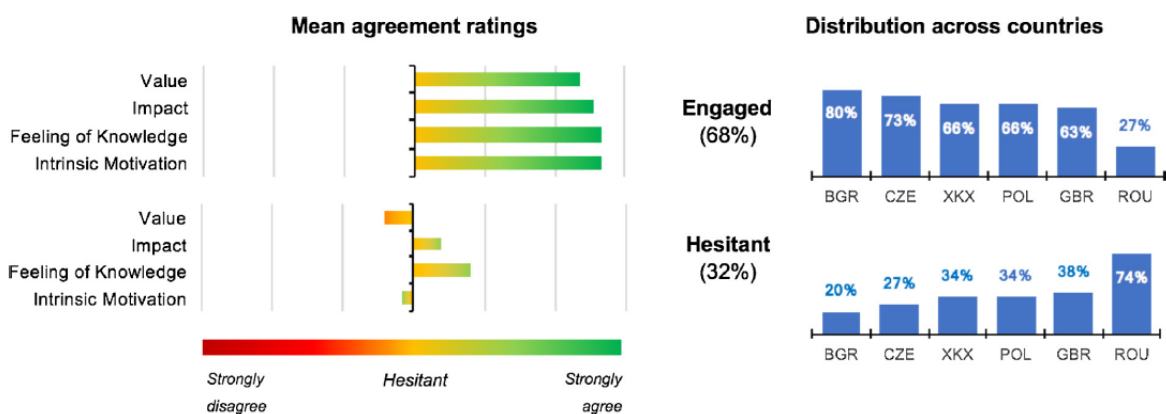


Figura 7 Datele de concordanță (reprodus după Vallée-Tourangeau G, Promberger M, Moon K, Wheelock A, Sirota M, Norton C, Sevdalis N. *Motors of influenza vaccination uptake and vaccination advocacy in healthcare workers: Development and validation of two short scales. Vaccine. 2018 Oct 22;36(44):6540-6545. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.08.025*)

Este interesant de observat că pentru țara noastră, marea majoritate a respondenților sunt ezitanți în promovarea vaccinării antigripale, ceea ce ridică probleme importante de abordare ale acestei probleme.

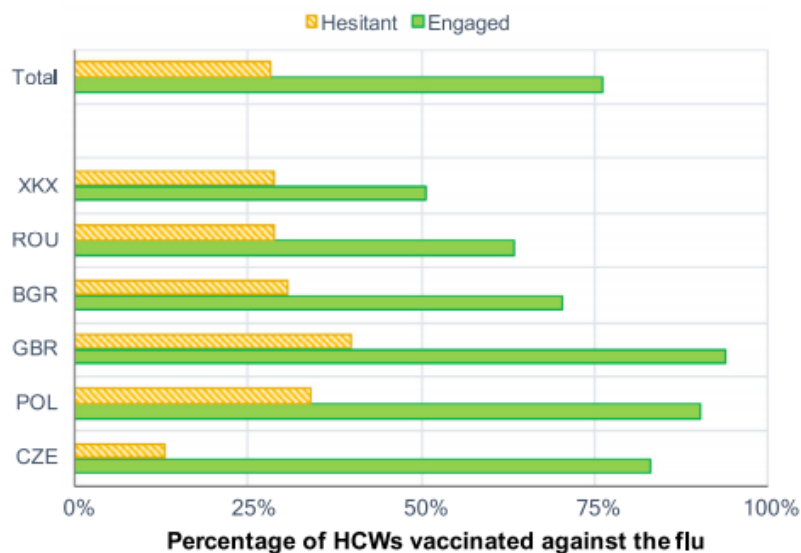


Figura 8 Procentul de personal medical vaccinat anti gripal. Sunt prezentate două grupuri, cei care au fost ezitanți și cei pro vaccinare, țările fiind ordonate de la cea mai mică diferență între cele două grupuri, la cea mai mare (*reprodus după Vallée-Tourangeau G, Promberger M, Moon K, Wheelock A, Sirota M, Norton C, Sevdalis N. Motors of influenza vaccination uptake and vaccination advocacy in healthcare workers: Development and validation of two short scales. Vaccine. 2018 Oct 22;36(44):6540-6545. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.08.025*)

Din nou, populația medicală din România tinde să nu se vaccineze antigripal, dar pare a dori să promoveze vaccinarea. În dinamica timpului, dorința de a se vaccina a devenit mai complexă și înglobează următorii parametri: sentimentul de valoare, impactul, cunoștințele și autonomia (258). Implicarea vine numai după ce ai simțit beneficiile vaccinării, lucru care este perfect vizibil și la populația noastră medicală studiată și este unul dintre elementele care vor determina conduita noastră ulterioară (259).

Recomandarea de vaccinare venită din partea unui cadru medical este însă cel mai puternic motor pentru vaccinare (260). Ezitarea în fața vaccinării nu poate să fie pur și simplu depășită prin furnizarea unor informații mai numeroase. Aspectele ei psihologice sunt extrem de complexe și începem abia acum să le înțelegem (261).

Cea mai oportună intervenție este aceea ”*Ascultă, Înțelege, Implică-te*”, căci cu ajutorul ei se poate obține o creștere susținută a numărului persoanelor care se vor vaccina. Cunoștințele cadrelor medicale legate de vaccinare trebuie, pe de altă parte, crescute în mod constant și, mai mult, trebuie susținute nu numai în perioadele epidemice (262).

Continuându-mi sfera preocupărilor privind percepția asupra vaccinării cadrelor medicale, într-un alt articol, parte a Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group (Maltezou HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, Carlsson RM, Heininger U, Hübschen JM, Josefsdottir KS, Kassianos G, Kyncl J, Ledda C, Medić S, Nitsch-Osuch A, de Lejarazu RO, Theodoridou M, Van Damme P, van Essen GA, Wicker S, Wiedermann U, Poland GA; Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. *Vaccine*. 2019 Dec 10;37(52):7576-7584. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.061) colectivul nostru demonstra diferențe remarcabile în ceea ce privește politicile de sănătate publică în cadrul diferitelor țări europene (263). Epidemii serioase și costisitoare apar mai ales în cadrul serviciilor de sănătate afectând un număr mare de cadre medicale (264). Mare parte dintre acestea pot fi evitate dacă vaccinarea s-ar face în mod corespunzător. Vaccinarea cadrelor medicale este cu dublu scop, primul protecția personală iar cel de al doilea, egal de important, este protecția pacienților (265). Pare că o bună practică a vaccinării cadrelor medicale ar fi responsabilă de reducerea unui număr important de decese în rândul populației vârstnice și din căminele de bătrâni (266).

În cadrul acestui studiu au participat 37 de țări europene, care au răspuns la întrebări legate de vaccinare, inclusiv cea gripală, meningococică, papilloma virus dar și pneumococică.

Vaccinarea anuală împotriva gripei este recomandată la nivel național în 30 de țări europene (30 din gripa 3) dar prea puține respectă cu adevărat această recomandare.

Tabel 23 Disponibilitatea pentru vaccinare în 30 de țări din Europa (*reprodus după Maltezou HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, et al; Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. Vaccine. 2019 Dec 10;37(52):7576-7584. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.061*)

Table 1
National vaccination policies for healthcare personnel (HCP) in Europe by vaccine and by country, 2018.

Country	Influenza	Measles	Mumps	Rubella	Varicella	Hep A	Hep B	Diphtheria	Tetanus	Pertussis	Polio	Men B	Men C	Men A, C, W, Y	BCG	Pneumo	HPV
Albania	R	M hM	M hM	M hM	nMnR	nMnR	M hM	M hM	R	M hM	M hM	nMnR	nMnR	R	R	nMnR	nMnR
Austria	R	R	R	R	R	spR	R	R	R	R	R	spR	spR	spR	nMnR	spR	nMnR
Belgium	R	R	R	R	spR	spR	M	R	R	R	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR
Bulgaria	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Croatia	R	M	M	M	nMnR	nMnR	hM	nMnR	M	M	M	nMnR	nMnR	nMnR	M	nMnR	nMnR
Cyprus	R	R	R	R	nMnR	nMnR	R	R	R	nMnR	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Czech Republic	R	sphM	nMnR	nMnR	nMnR	sphM	M	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR
Denmark	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Estonia	R	spR	spR	spR	spR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Finland	spR	R	R	R	R	spR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
France	R	R	R	R	R	spR	M	M	M	R	M	nMnR	nMnR	nMnR	M	nMnR	nMnR
Germany	R	R	spR	spR	R	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	R	spR	spR	spR	nMnR	nMnR	nMnR
Greece	R	R	R	R	spR	nMnR	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Hungary	R	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	hM	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	spR	spR	nMnR	nMnR	nMnR
Iceland	R	R	R	R	nMnR	nMnR	R	R	R	R	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Ireland	R	R	R	R	R	spR	R	nMpR	spR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Italy	R	R	R	R	R	spR	R	R	R	R	nMnR	spR	spR	spR	R	nMnR	nMnR
Latvia	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	R	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Lithuania	R	R	R	R	R	R	R	R	R	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR
Luxembourg	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Malta	R	R	R	R	spR	spR	R	nMnR	R	R	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Moldova	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	sphM	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Netherlands	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Norway	spR	spR	spR	spR	spR	nMnR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	nMnR	nMnR
Poland	R	spR	spR	spR	nMnR	nMnR	M hM	nMnR	nMnR	R	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Portugal	R	M	M	M	nMnR	nMnR	M	M	M	spM	R	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR
Romania	R	R	R	R	R	nMnR	M hM	R	R	R	R	spR	spR	spR	nMnR	spR	nMnR
Russia	R	R hM	nMnR	spR hM	nMnR	sphM	R hM	R hM	R hM	nMnR	sphM	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Serbia	spM	spM	spM	spM	nMnR	nMnR	spM	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spM	nMnR	nMnR	nMnR
Slovakia	spR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	sphM	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spM	nMnR	nMnR
Slovenia	R	M	M	M	R	nMnR	M	M	M	spM	M	R	R	R	nMnR	nMnR	nMnR
Spain	R	R	R	R	R	spR	R	R	R	spR	spR	spR	spR	spR	nMnR	spR	nMnR
Sweden	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
Switzerland	R	R	R	R	R	spR	R	R	R	R	R	nMnR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	nMnR
Ukraine	R	R	nMnR	nMnR	R	nMnR	R	M	M	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR	nMnR
United Kingdom	R	spR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	spR	nMnR	spR	nMnR	nMnR	spR	spR	nMnR	nMnR

hM: mandatory to get hired; M: mandatory; nMnR: not mandatory-not recommended; R: recommended; sphM: mandatory to get hired for specific HCP groups or settings; spM: mandatory for specific HCP groups or healthcare settings; spR: recommended for specific HCP groups or healthcare settings; Hep A: Hepatitis A; Hep B: Hepatitis B; Polio: Poliomyelitis; Men: Meningococcus; BCG: Bacillus Calmette-Guérin vaccine; Pneumo: Pneumococcus; HPV: human papilloma-virus.

Tabel 24 Vaccinuri obligatorii pentru personalul medical din Europa în 2018 (*reprodus după Maltezou HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, et al; Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. Vaccine. 2019 Dec 10;37(52):7576-7584. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.061*)

Table 2
Mandatory vaccinations for HCP in Europe, 2018.

- Influenza: Serbia (for specific groups of HCP)
- Measles-Mumps-Rubella: Albania, Croatia, Portugal, Serbia (for specific groups of HCP), Slovenia
- Tetanus: Croatia, France, Portugal, Slovenia, Ukraine
- Diphtheria: Albania, France, Portugal, Slovenia, Ukraine
- Pertussis: Albania, Croatia, Portugal, Slovenia
- Poliomyelitis: Albania, Croatia, France, Slovenia
- Hepatitis A: Slovakia (for specific groups of HCP)
- Hepatitis B: Albania, Belgium, Czech Republic, France, Moldova, Poland, Portugal, Romania, Serbia (for specific groups of HCP), Slovenia
- Meningococcus A, C, W, Y: Serbia (for specific groups)
- Tuberculosis: Croatia, France

Din păcate pentru România un singur vaccin este obligatoriu pentru personalul medical (hepatita B). Se explică așadar, numărul mare de îmbolnăviri în cadrul personalului medical în sezoanele de toamnă iarnă cu virusul gripal.

De asemenea, discrepanțele care există între țările europene legat de vaccinare sunt determinate și de absența unor recomandări ferme de vaccinare. Sunt recomandări ferme legate doar de vaccinarea personalului care este implicat în manopere sângerânde, cu hepatita B, iar vaccinarea antigripală nu este obligatorie, este doar recomandată (267).

OMS-ul dorește să implementeze politici de vaccinare la nivel European, la care să adere întreaga populație medicală (268).

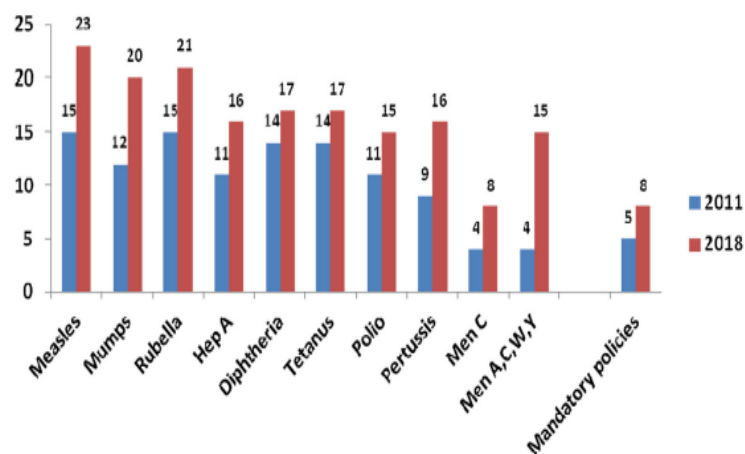


Figura 9 Politicile de vaccinare pentru personalul medical în 2011 (*reprodus după Maltezu HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, et al; Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. Vaccine. 2019 Dec 10;37(52):7576-7584. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.061*)

Există progrese certe dar și mai muți pași de făcut înspre starea de normalitate. În linia studiului impactului vaccinării antigripale, dar și al percepției asupra acesteia, la șapte ani de la primul studiu legat de politicile de vaccinare antigripală am evaluat efectele demersurilor noastre la nivelul țărilor europene unde ne desfășurăm activitatea (269).

În 2009 Consiliul European atrăgea atenția că ar fi necesară o acoperire vaccinală antigripală anuală de peste 75% în cadrul populației generale (270). Cu toate acestea, în sezonul 2012/2013 acoperirea vaccinală nu trecea de 45% (271).

Din punct de vedere statistic rata de acoperire vaccinală a scăzut la toate grupele considerate, ceea ce indică o scădere a încrederii în vaccinare (272).

Tot în același context al preocupărilor legate de infecțiile gripale am mai publicat un caz clinic de parkinsonism post gripă, cu evoluție bună și cu recuperare completă (Falup-Pecurariu C, Diaconu Ș, Falup-Pecurariu O, Ciopleiaș B, Sîrbu CA. Acute reversible parkinsonism post-influenza infection. *Acta Neurol Belg.* 2020 Jun;120(3):723-724. doi: 10.1007/s13760-019-01215-2).

Parkinsonismul acut poate fi ușor sau, din contră, cu evoluție severă. Acesta poate fi declanșat de către diferite virusuri, printre care și cel gripal, dar și de medicamente diverse sau de către toxine (273). Cazul descrie o femeie în vârstă de 73 de ani, la care la trei zile după remisiunea simptomelor de gripă au apărut tulburări de echilibru și lentoare în mișcare (274). Ca și comorbidități prezenta dislipidemie și hipertensiune, iar testul de gripă a fost pozitiv. Examenul neurologic evidenția la momentul prezentării bradilalie, bradikinezie bilaterală și hipomimie, rigiditate extrapiramidală bilaterală, discrete, avea instabilitate postural, nu putea să inițieze pașii. S-a efectuat panelul de teste imunologice pentru stabilirea diagnosticului. S-a efectuat și rezonanță magnetică nucleară (RMN) cerebrală care evidențiază atrofie cerebelară bilară dar și corticală, difuză cu leucoaraoză periventriculară.

Se inițiază tratament cu levodopa, după 2 săptămâni simptomatologia se remite complet. Puține au fost rapoartele de acest fel în ultimii ani (275). Răspunsul inflamator pe care îl declanșează virusul prin activarea celulelor microgliale pare a constitui baza neurodegenerării la nivelul sistemului nervos central, cu precădere la nivelul substantia nigra pars compacta (276).

Au fost raportate cazuri de parkinsonism acut și după vaccinarea antigripală, explicația acestor fenomene fiind reducerea funcției transportorului de dopamină la nivelul striatului, care însă s-a recuperat după administrare de medicație antidopaminergică.

II.1.b. Patologia determinată de Stafilococ la copii

Continuând aceeași linie de cercetare a rolului virusurilor și bacteriilor în etiopatogenia bolilor respiratorii la copii, precum și colaborarea cu celelalte centre europene, am făcut parte din colectivul care a publicat studiul multicentric european care evalua factorii de risc asociați cu infecția stafilococică comunitară (Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004 (230).

Scopurile acestui studiu European multicentric prospectiv au fost definirea caracteristicilor clinice și microbiologice ale infecției cu Stafilococ aureus (*S. aureus*) invaziv și analizarea factorilor de risc corelați cu severitatea bolii.

A fost realizat un studiu prospectiv, multicentric European, pe o perioadă de 2 ani (1 Octombrie 2012 - 30 Septembrie 2014) utilizând foi de date standardizate care au încorporat date epidemiologice (sex, vârstă), microbiologice (locul izolării, rezistența la antibiotice, prezența PVL) și clinice (simptome la prezentare, durata simptomatologiei înaintea prezentării, durata spitalizării, internarea pe secția de terapie intensivă pediatrică, durata internării pe secția de terapie intensivă pediatrică, utilizarea medicamentelor inotrope și a ventilației mecanice). Toți copiii cu vârsta între 0 și 16 ani cu infecții invazive CA-SA care au îndeplinit criteriile au fost înrolați în 13 centre europene din șapte țări diferite (Spania, Lituania, Israel, Italia, Germania, Grecia și România). Datele au fost colectate de către cercetătorul principal din fiecare centru, de la părinți, pacienți și fișe medicale.

Infecțiile invazive au fost definite ca infecție clinică cu izolarea *S. aureus* dintr-un loc steril în mod obișnuit, precum sânge, lichid cefalorahidian, lichid pleural, lichid pericardic, lichid peritoneal, lichid sinovial, os etc. Pentru ca pneumonia să fie inclusă, semne și simptome de infecție de tract respirator inferior (de exemplu tuse, expectorație, durere toracică) și infiltrate pulmonare lobare pe radiografia toracică, neatribuibile altor cauze, erau obligatorii, împreună cu izolarea *S. aureus* drept singurul patogen potențial, prin cel

puțin una din următoarele metode: 1) puncția unei efuziuni pleurale sau a unui abces pulmonar; 2) cultura din lichidul de lavaj bronhoalveolar (minim 10⁴ CFU/ml) sau Wimberley brushing (minim 10³ CFU/mL) sau aspirație traheală protejată (minim 10³ CFU/mL); și 3) cultură de sânge. Bacteriemia primară a fost definită ca fiind neprecedată de infecție în altă locație. Doar infecțiile comunitare au fost incluse.

Rezultate

Date demografice

Un total de 152 copii (88 băieți) cu infecție invazivă CA-SA au fost incluși în acest studiu din următoarele țări: Spania (68), Lituania (56), Israel (10), Grecia (5), Italia (4), Germania (5) și România (4). Raportul pe sexe (masculin-feminin) a fost de 1.4 și vârsta medie a fost 7.2 ani (între 1.3-11.9 ani).

Istoric medical și date microbiologice

Factorii de risc pentru infecție și/sau boală invazivă au fost depistați în 28% dintre pacienți (12 pacienți au prezentat dispozitive pentru acces intravascular de lungă durată, 13 au prezentat boli cronice sau acute predispozante, 11 au prezentat boli oncologice și 6 erau nou-născuți). Majoritatea pacienților s-au prezentat cu simptome articulare sau osoase (84, 55%), urmate de simptome respiratorii (31,2%), 21 pacienți s-au prezentat cu sindrom influenza-like (febră, tuse, artralgie).

Prezentare și deznodământ

Douăzeci și șase de pacienți (17%) au prezentat infecție severă, dintre care trei copii (2%) au decedat. Infecțiile osului și articulațiilor (55%), urmate de bacteriemie (22%, 13% primară și 9% rezultând din SSTI) și pneumonia (17%) au fost cele mai comune infecții invazive.

Analiză univariată

Infecțiile severe și nonsevere au fost comparate (Tabelul 25). Nu au fost găsite diferențe semnificative în ceea ce privește sexul, vârsta, rezistența la meticilină sau prezența factorilor predispozanți pentru infecții severe invazive. Pacienții cu infecții severe au avut o frecvență crescută a izolatelor PVL-pozitive (9/25, 36% vs. 13/93, 15%, p 0.012), erau mai probabili să se prezinte cu pneumonie (13/26, 50% vs. 13/126, 10.3%, p < 3000/mm³) la internare (3/24, 12.5% vs. 2/125, 1.6%, p 0.03). Cazurile severe au avut de asemenea o valoare mai

crescută a proteinei C reactive la prezentare (17.5 ± 11.2 vs. 8.8 ± 12.1 , $p 0.002$) și o durată medie de spitalizare mai îndelungată (30.4 ± 19.5 vs 15.6 ± 10.3 zile: $p < 0.001$).

Comparând infecțiile PVL-pozitive cu cele PVL-negative (Tabelul 26), pacienții cu infecții PVL-pozitive au avut o durată de spitalizare mai îndelungată (24.3 ± 16.1 vs. 18.0 ± 12.0 zile; $p 0.04$). Totuși, nu au fost diferențe în ceea ce privește sexul, vârsta, rezistența la meticilină sau alți parametri analizați.

Tabel 25 Caracteristicile infecțiilor cu *Staphylococcus aureus* severe versus non severe (*reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, et al. Factors associated with severity in invasive community-acquired Staphylococcus aureus infections in children: a prospective European multicentre study. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004*)

Table 2
Characteristics of severe versus nonsevere community-acquired invasive *Staphylococcus aureus* infections

Characteristic	Severe (n = 26)	Nonsevere (n = 126)	p	OR (95% CI)
Male/female	13/13	75/51	0.37	0.68 (0.29–1.58)
Age (years), mean \pm SD	6.6 \pm 5.9	7.3 \pm 5.4	0.66	
Underlying disease ^d	8/26 (30.8%)	34/126 (27%)	0.71	1.18 (0.47–2.96)
Hospital stay (days), mean \pm SD	30.4 \pm 19.5	15.6 \pm 10.3	<0.001	
WBC at admission (cells/mm ³), mean \pm SD	11 716 \pm 6598	13 041 \pm 7080	0.39	
PVL positive ^a	9/25 (36%)	13/93 (15%)	0.012	3.46 (1.27–9.43)
MRSA	3/26 (11.5%)	10/125 (8%)	0.44	1.50 (0.38–5.88)
CRP at admission (mg/dL), mean \pm SD	17.5 \pm 11.2	8.8 \pm 12.1	0.002	
Leucopenia at admission (<4000)	3/24 (12.5%)	4/125 (3.2%)	0.08	4.32 (0.98–20.71)
Leucopenia at admission (<3000)	3/24 (12.5%)	2/125 (1.6%)	0.03	8.79 (1.38–55.77)
Fever at admission ($^{\circ}$ C), mean \pm SD	38.6 \pm 0.8	38.6 \pm 1.2	0.69	
Pneumonia	13/26 (50.0%)	13/126 (10.3%)	<0.001	8.7 (3.33–22.7)
Bone and joint infections	11/26 (42.3%)	74/126 (58.7%)	0.16	0.55 (0.23–1.28)
Primary bacteraemia	3/26 (11.5%)	22/126 (17.5%)	0.46	0.61 (0.17–2.23)
Result of SSTI bacteraemia ^b	0/26 (0%)	13/126 (10.3%)	0.13	0.16 (0.01–2.75)
Isolate in blood ^c	17/26 (65.4%)	66/126 (52.4%)	0.18	(0.75–4.35)

Tabelul 26 Caracteristicile infecțiilor PVL-pozitive versus PVL-negative (*reprodus după Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, et al. Factors associated with severity in invasive community-acquired Staphylococcus aureus infections in children: a prospective European multicentre study. Clin Microbiol Infect. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004*)

Table 3
Characteristics of PVL-positive versus PVL-negative infections

Characteristic	PVL positive (n = 22)	PVL negative (n = 96)	p	OR (95% CI)
Sex, M/F	13/9	60/36	0.76	0.86 (0.34–2.23)
Age (years), mean \pm SD	7.9 \pm 4.9	7.1 \pm 5.4	0.61	
Underlying disease	4/22 (18.2%)	28/96 (29.5%)	0.43	1.87 (0.58–6.06)
Hospital stay (days), mean \pm SD	24.3 \pm 16.1	18.0 \pm 12.0	0.042	
WBC at admission (cells/mm ³), mean \pm SD	11 723 \pm 6715	13 185 \pm 70508	0.38	
Severe infection	9/22 (40.9%)	16/96 (16.7%)	0.012	3.46 (1.27–9.43)
MRSA ^a	4/22 (18.2%)	6/96 (6.25%)	0.07	3.33 (0.85–13.02)
CRP at admission (mg/dL), mean \pm SD	14.4 \pm 13.3	9.8 \pm 13.5	0.16	
Leucopenia (<3000)	2/22 (9.5%)	2/96 (2.1%)	0.15	4.84 (0.64–36.55)
Fever at admission ($^{\circ}$ C), mean \pm SD	38.9 \pm 0.9	38.4 \pm 1.2	0.05	
Pneumonia	7/22 (31.8%)	17/96 (17.7%)	0.15	2.17 (0.76–6.13)
Bone and joint infections	12/22 (54.5%)	58/96 (60.4%)	0.61	1.27 (0.50–3.24)
Primary bacteraemia	4/22 (18.2%)	10/96 (10.4%)	0.31	1.91 (0.54–6.78)
Resulting from SSTI bacteraemia ^b	2/22 (9.1%)	6/96 (6.2%)	0.64	1.50 (0.28–7.99)
Isolate in blood ^c	14/22 (63.6%)	50/96 (52.1%)	0.33	1.6 (0.62–4.19)

În acest studiu European multicentric prospectiv, severitatea și impactul infecțiilor invazive CA-SA la copii au fost evaluate. Douăzeci și șase de pacienți (17%) au avut infecții severe incluzând trei decese (2%). Majoritatea copiilor cu infecții severe au fost sănătoși anterior și au fost admiși la unitatea de terapie intensivă pediatrică ca urmare a insuficienței hemodinamice sau respiratorii din cauza pneumoniei severe sau șocului septic.

Am participat în colectivul care a publicat caracterizarea sistemului de sănătate în pediatrie din România (Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775) (277).

Datele demografice ale țării noastre sunt prezentate în continuare.

Tabel 27 Datele demografice și economice ale României în comparație cu Uniunea Europeană (*reprodus după Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775*)

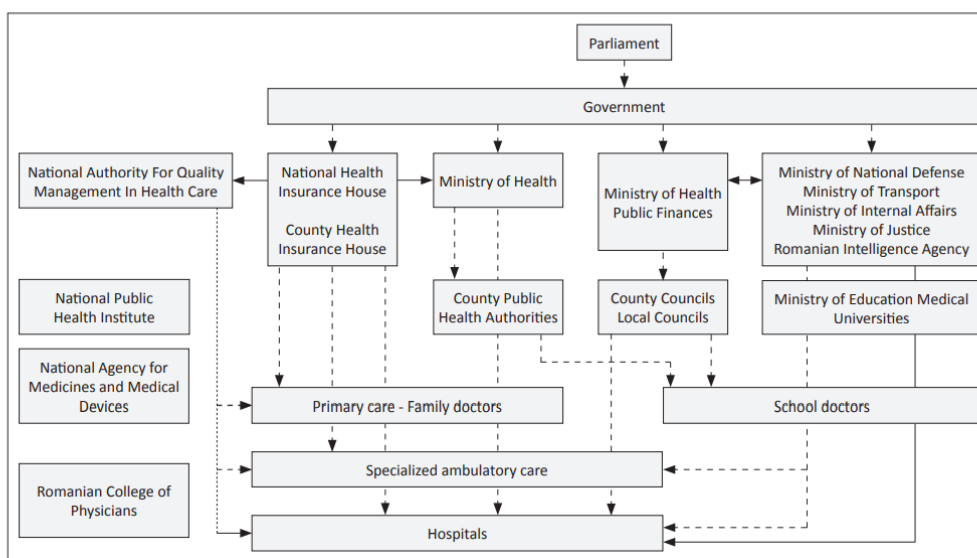
Table 1. Demographic and economic data of Romania compared with the European Union (1–5)

	Romania		European Union
	1990	2018	(EU-28)
Surface (km ²)	238.397	238.397	4,422.773
Population (millions)	23.20	19.64 (2017)	511.81 (2017)
Children 0–14 years (%)	23.56	15.56 (2017)	15.43 (2016)
Live births (/1000 inhabitants)	13.56	9.6	10.1
Infant mortality rate (/1000 inhabitants)	26.9	7.2 (2017)	3.7 (2015)
Maternal mortality rate	83.56	11.44 (2012)	
Natural increase (/1000 inhabitants)		-3.7	0
Average life expectancy (years)	69.79	75.6	81
Yearly average inflation rate (%)	–	1.1	1.7
Unemployment rate (%)	–	4.5 (2018)	7.6
Youth unemployment rate (%)	–	16.8 (2018)	15.6 (2018)
GDP per capita (US\$)	1.680	10.932 (2017)	29.950 (2017)
Relative poverty rate (%)	–	19.8 (2015)	10.8 (2015)
Share of healthcare expenditure in GDP (%)	3.2 (1995)	5 (2015)	7.2
Share of social protection expenditure in GDP (%)	–	14.6 (2015)	29
Share of the research and development expenditure in GDP (%)	–	0.48 (2015)	2.03
GDP growth rate (%)	–	4 (2017)	2.4

GDP: Gross domestic product

Structura sistemului de sănătate din țara noastră era prezentat pe larg.

Tabel 28 Structura sistemului de sănătate din România (reprodus după Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775)



Numărul pediatriilor era mic față de necesitățile României, în vreme ce mediul rural este în mare măsură descoperit față de mediul urban.

Tabel 29 Numărul de pediatri din România în 2014, pe categorii de specialități (reprodus după Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775)

Table 2. Number of physicians in pediatric healthcare in 2014 based on pediatric specialties*

	Romania 2014	Public system		Private system	
		n	%	n	%
Family physicians	12.655	6561	51.85	6094	48.15
Pediatrics	2525	2120	83.96	405	16.04
Neonatology	498	432	86.75	66	13.25
Pediatric neurology	148	121	81.76	27	18.24
Pediatric psychiatry	265	229	86.42	36	13.58
Pediatric surgeons	290	254	87.59	36	12.41
Total	54.929	40.658	74.02	14.271	25.98

*Physicians and dental doctors working in school medicine network were not included. Source: National Institute of Statistics 2014 (10)

Acoperirea vaccinală era suboptimală la data studiului, ceea ce puna și continuă să pună probleme deosebite în ceea ce privește sănătatea publică.

Tabel 30 Rata de acoperire vaccinală în România (*reprodus după Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775*)

Table 3. Vaccines coverage in Romania*

	2010 (%)	2016 (%)
BCG	98.7	95.5
HepB	97.6	89.8
DTP	93.8	60.7
IPV	93.6	60.7
MMR	93.2	85.8
Hib	–	60.7

BCG: Bacillus Calmette-Guerin vaccine; HepB: Hepatitis B vaccine; DTP: Diphtheria tetanus pertussis vaccine; IPV: Polio inactivated vaccine; MMR: Measles mumps rubella vaccine; Hib: Haemophilus influenza B. *2010–2016 according to CNSCBT - National Center for Surveillance and Control of Communicable Diseases (27, 32)

Schema Națională de vaccinare este una dintre cele mai puțin ofertante și mai puțin aduse la zi.

Tabel 31 Schema națională de vaccinare (*reprodus după Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. Turk Pediatri Ars. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775*)

Table 4. Vaccination schedule for Romania 2018*

	First 24h, 2–7 days	2 m	4 m	11 m	12 m	5 yr	6 yr	14 yr	Every 10 yr
BCG	•								
Hep B	•	•	•	•					
DTPa		•	•	•			•	dT/DTPa	dT
IPV		•	•	•			•		
Hib		•	•	•					
PCV		•	•	•					
MMR					•	•			
Observations	Maternity								Family physician office

BCG: Bacillus Calmette-Guerin vaccine; HepB: Hepatitis B vaccine; DTPa: Diphtheria tetanus pertussis acellular vaccine; DT: Diphtheria tetanus vaccine for adolescents and adults; IPV: Polio inactivated vaccine; MMR: Measles mumps rubella vaccine; Hib: Haemophilus influenza B. If the HepB vaccine is not available in the first 24h of life, if the mother is HBsAg positive the infant will receive DTPa-VPI-Hib-HepB vaccine at 6 weeks, then the other 2 doses at 30-day intervals and the 4th dose at 11 months. If the mother is HBsAg negative the infant will follow the schedule without the first HepB dose. *According to CNSCBT - National Center for Surveillance and Control of Communicable Diseases (33)

Punctele tari ale sistemului de sănătate public din România erau accesibilitatea și gratuitatea copiilor la toate tipurile de examinări și servicii medicale, în vreme ce principalele limitări și puncte slabe au fost considerate a fi un număr prea mic de pediatri față de necesități, trecerea copiilor din îngrijirea medicilor pediatri la medicii de familie, un număr insuficient de personal medical în zonele rurale ale României.

În linie cu aceleași preocupări legate de studiul etiologiei infecțiilor acute la sugar și la copii am făcut parte din colectivul European care a elaborat primul ghid de diagnostic și de tratament al infecțiilor osteo-articulare la copii (Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. *Pediatr Infect Dis J.* 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801) (278,279).

Infecțiile osteoarticulare la copii sunt relativ rare, având etiologie bacteriană în marea majoritate a cazurilor și pot să determine sechelaritate pe termen lung dacă nu sunt diagnosticate și tratate corect de la debutul simptomatologiei lor. În România există un singur studiu publicat în revistă cotate ISI legat de această patologie, dar care este grevat de limitare, datorită faptului că vârsta copilăriei este amestecată cu cea a adultului.

Ghidul de bună practică european demonstrează câteva elemente importante:

1. Infecțiile osteo-articulare afectează în principal copii cu vârsta de până la 5 ani și cu precădere membrele inferioare și oasele lungi.

2. Principalii agenți etiologici sunt reprezentați de către *Stafilococul auriu* și de către *K.kingae*

3. Diagnosticul este clinic, paraclinic dat de modificarea marker-ilor de inflamație și mai apoi de imagistică

4. Combinația între rezultatul PCR și cel al VSH-ului are o sensibilitate crescută

5. Ecografia are sensibilitate crescută pentru artrită iar RMN-ul este cel mai de finețe pentru diagnosticul infecțiilor osteoarticulare

6. Izolarea unui microorganism din lichidul articular este de dorit și se asociază cu diagnosticul clinic și cu cel radiologic

7. Tratamentul empiric se inițiază cât mai curând posibil din momentul suspiciunii de diagnostic

8. Terapia inițială trebuie să acopere MSSA dar și MRSA după care se va schimba funcție de antibiogramă

9. Terapia trebuie să acopere și *K.kingae*

10. La copii pentru infecțiile osteoarticulare cele mai bine studiate antibiotice sunt reprezentate de către cefalosporinele de generația I, penicilinele anti-stafilococice și clindamicina.

11. Dacă se suspicionează infecția cu MRSA, atunci terapia inițială trebuie să cuprindă neapărat clindamicina, dacă rezistența este de peste 15%, atunci trebuie să cuprindă daptomicina sau linezolidul

12. Drenajul și spălătura articulară rămân principalele mijloace terapeutice
13. Cura scurtă de terapie i.v. urmată de terapie per os rămân de dorit în tratamentul copiilor
14. Terapia orală cu antibiotice respectiv clindamicina oral sau cefalosporinele de generația întâia sunt cele mai bine studiate în cadrul infecțiilor osteo-articulare la copil.
15. Durata minimă de tratament pentru artrita septică este de două săptămâni în vreme ce pentru osteomielită trebuie să fie de trei săptămâni
16. Formele complicate de infecții osteo-articulare și cele apărute la copiii cu risc crescut vor beneficia de terapie prelungită, atât cea administrată iv cât și cea administrată per os.
17. Sechelaritatea este cel mai frecvent întâlnită la nou născut, sugarul mic, infecții datorate MRSA, infecții prelungite, implicarea oaselor articulației coxofemorale
18. Copiii trebuie urmăriți de către o echipă multi-disciplinară.

Tabel 32 Cei mai frecvenți patogeni, în funcție de vârstă în infecțiile osteoarticulare (*reprodus după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801*).

TABLE 1. Most Common Pathogens by Age in Acute BJI^{3,4,16,23}

Age Group	Pathogen
Infant: <3 mo old	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> and other Gram-negative bacteria GBS <i>Candida albicans</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (newborns)
Young child: 3 mo to 5 yr old	<i>S. aureus</i> <i>Kingella kingae</i> GAS <i>Streptococcus pneumoniae</i> (especially under 2 yr old) <i>Haemophilus influenzae</i> type b (exceptional in well-immunized populations)
Older child: ≥5 yr old	<i>S. aureus</i> GAS <i>N. gonorrhoeae</i> (in sexually active adolescents)

Tabel 33 Cele mai frecvente semne și simptome ale infecțiilor osteoarticulare după vârstă și localizare (*reprodus după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278)*)

TABLE 2. Clinical Features of BJI by Age and Location

BJI	Age	Systemic Symptoms	Local Symptoms
OM	Neonate	<ul style="list-style-type: none"> Fever (frequently not present) Irritability Poor feeding May be difficult to distinguish from other infections at this age 	<ul style="list-style-type: none"> Widespread limb pain difficult to localize on examination Bone or limb swelling Erythema Pseudoparalysis May have no local signs, especially when flat bones affected
	Young child	<ul style="list-style-type: none"> In young infants: vomiting, poor feeding, irritability Fever: not always present, but may be the only symptom Systemic symptoms in SA are usually more severe 	<ul style="list-style-type: none"> May have no local signs Refusal to bear weight or sit down Limping Bone or limb swelling Erythema
	Older child	Same as OM, Young child.	<ul style="list-style-type: none"> Limp Pain—more localized Bone or limb swelling Erythema Older children tend to localize more the symptomatology
SA	All	<ul style="list-style-type: none"> In young infants: vomiting, poor feeding, irritability Fever: not always present, but may be the only symptom Systemic symptoms in SA are usually more severe 	<ul style="list-style-type: none"> Hot, swollen, immobile peripheral joint Refusal to bear weight Pain on passive joint movement
Spondylodiscitis	All	<ul style="list-style-type: none"> Fever is uncommon or low grade No systemic illness BJI of the pelvis or sacroiliitis may have similar symptoms 	<ul style="list-style-type: none"> Insidious onset back pain Refusal to sit, stand, walk or limping Refusal to flex the spine Constipation or abdominal pain Loss of lordosis, local tenderness or paraspinal muscle spasm Rarely neurologic signs²⁸
Pyomyositis	All	<ul style="list-style-type: none"> Fever Frequently no increase of creatine phosphokinase Abdominal pain (psoas and muscles around) 	<ul style="list-style-type: none"> May have no local signs Refusal to bear weight Limp Bone or limb swelling Pain—more localized

Tabel 34 Opțiunile de diagnostic pentru copiii cu infecții osteoarticulare (*reprodus după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278)*)

TABLE 4. Diagnostic Options for Childhood BJI

Type	Tests	Notes/Remarks
Laboratory tests ³³⁻³⁵	CRP	<ul style="list-style-type: none"> – Easy, inexpensive and rapid test in diagnostics and follow-up – High sensitivity for diagnosis of BJI^{24,36} – Normal rate is reached quickly (in 3–8 d) during recovery of BJI²⁹
	ESR	<ul style="list-style-type: none"> – This test may be more difficult in children: larger sample blood volume needed and possible laboratory errors because of handling problems – Some studies have shown high sensitivity.⁵ Sensitivity may be higher with measurement of both CRP and ESR. – Low specificity for diagnosis of BJI – Normal rate is reached a long time (2–3 wk or more) during recovery of BJI²⁹
	CBC	<ul style="list-style-type: none"> – Useful in conjunction with ESR and CRP – White blood cell, hemoglobin and platelet count may still be very useful for differential diagnosis of BJI (eg, leukemia)
Imaging	Radiograph imaging	<ul style="list-style-type: none"> – Always at baseline (often normal at baseline but useful for later reimaging comparison and to rule out other diseases) – Plain radiography often misses joint effusion, especially in the hip joint – If clinical presentation is not severe and clinical outcome on therapy is appropriate, an additional imaging study may not always be necessary
	US sonography	<ul style="list-style-type: none"> – Identify joint effusion in septic arthritis (very sensitive) – Subperiosteal abscess (low sensitivity for OM but may be very useful) – Doppler may detect elevated blood flow in OM and help in early diagnosis³⁷
	Scintigraphy/ Tc bone scan	<ul style="list-style-type: none"> – In several European countries, scintigraphy has become unpopular because of high radiation dose* – In others, it is still frequently used in the diagnosis of OM – It may be useful in ill-defined locations or if multiple foci are suspected
	MRI	<ul style="list-style-type: none"> – MRI is expensive and not always available – Best test for OM, especially if symptoms are localized – Not always needed in every child, especially if the diagnosis is clear and the child improves in a short period (2–3 d) – Provides excellent definition of soft tissues and bone marrow – Whole body MRI for multifocal processes has proven very useful,³⁸ for example, in cases of severe CA-MRSA
	CT scan	<ul style="list-style-type: none"> – Reserved for diagnostic dilemma in most centers, although local variation exists even within countries—much higher radiation than any other imaging test* – It may be more frequently used in centers where MRI is not readily available
Microbiology	Blood culture	<ul style="list-style-type: none"> – Should always be obtained despite a possible low yield (10%–40%) – In neonates and young infants with OM, blood culture may be positive on suspected sepsis without local signs – The presence of <i>Staphylococcus aureus</i> in the blood should prompt a consideration of occult BJI
	Synovial fluid/bone sample: Gram staining, culture	<ul style="list-style-type: none"> – If sample taken, obtain it before initiation of antibiotic treatment (especially for synovial fluid) – Bone sample not always required; to be considered if subperiosteal pus is present or infection is not improving as expected – Important also for the diagnosis of noninfectious processes – Drainage, for example, of purulent fluid or abscess, may also serve as an important form of therapy
	Bacterial PCR (when available)	<ul style="list-style-type: none"> – Including molecular detection of <i>Kingella kingae</i>, <i>S. aureus</i> or others by using eubacterial ribosomal RNA amplification in tissue sample or synovial fluid. It may significantly increase the yield of a microorganism in SA, especially in previous use of antibiotics. Specific primers may be more sensitive.²⁴

Tabel 35 Opțiunile de tratament în infecțiile osteoarticulare (*după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278)*)

TABLE 5. Principle Scheme for Management of Simple or Uncomplicated and Complex BJI (See Text for Details)

Management Components	Suspected Diagnosis	
	Uncomplicated OM or SA	Complex* OM or SA
Hospitalization	Yes	Yes
Blood tests	CBC, CRP, ESR	
Bacteriology	Blood culture—Generally, 4 mL minimum, 2 mL for neonates ^{§1} Culture of any possible material, especially joint fluid; consider bone sample in certain circumstances (it may be crucial in complex BJI); PCR from synovial fluid, abscesses or tissue when feasible	
Imaging	OM—Always plain radiograph. Consider MRI SA—US. MRI to document suspected OM in SA and perifocal disease	OM—Always plain radiograph. MRI, US SA—US, MRI, consider ⁹⁹ Tc bone scan if no MRI is available
Surgery	Avoid if possible—Indications include need for pus or effusion drainage, bone destruction Always arthrocentesis/arthrotomy for SA	Consider—Indications include need for pus or effusion drainage, bone destruction or diagnostic purposes
Antibiotic treatment	See Section 7	
Monitoring	When pathogen is not known: • Switch to oral antibiotic monotherapy following local microbiologic or clinical infectious disease standards • Choose antibiotic spectrum similar to IV if initial IV response was favorable	
Switch IV to oral treatment	Consider second line or additional antibiotics, especially as long as Gram-negative bacteria or MRSA are not ruled out	
Criteria for time to switch—pathogen is unknown	Afebrile or clearly decreased temperature 24–48 hr, improved clinical condition (reduction of pain, mobility, inflammation) >24 hr and significantly decreased CRP (30%–50% of highest value)	Similar parameters but consider a minimum of 1 wk of IV therapy
Up to 3 mo old—time to switch and duration	Consider switch after 14–21 d, especially under 1 mo of age; some experts consider switching earlier →OM and SA—4–6 wk total antibiotic treatment	Consider switch after 21 d; it may be earlier in certain favorable circumstances →OM and SA—4–6 wk or longer (up to several months) oral antibiotic treatment based on individual response
3 mo old and older—time to switch and duration	Consider switch after 24–48 hr of improvement →OM—minimum 3–4 wk total →SA—minimum 2–3 wk total†	Consider 10–14 d of IV antibiotics depending on severity and outcome, but may be switched to PO earlier →OM and SA—4–6 wk or longer (up to several months) oral antibiotic treatment based on individual response and other specific characteristics
Follow-up	<ul style="list-style-type: none"> • CRP measurements—reliable and inexpensive in the follow-up of OM and SA. No need to repeat inflammatory markers once normalized unless new clinical findings • Long-term beta-lactam therapy may produce leukopenia, usually mild to moderate • Clinical investigation—longer follow-up: infants, physis involvement and complex disease • Radiograph, sonography or MRI may be needed • End-point therapy: Normal CRP, asymptomatic or minor symptoms‡ and after minimum length of treatment—see above. The end-point may be more difficult to determine in complex OM/SA • Orthopedic follow-up at end of course of treatment more important than PID to address any ongoing sequelae of the bone or joint infection 	

Tabel 36 Tratamentul empiric în funcție de vârstă (*reprodus după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278)*)

TABLE 6. Empirical Therapy by Age

Age	Empirical IV Antibiotic Treatment*
Up to 3 mo old	Cefazolin (or ASP) + gentamicin; ASP + cefotaxime may be an alternative [§]
3 mo to 5 yr old	Cefazolin [†] or cefuroxime [‡] Clindamycin in regions of non- <i>Kingella</i> ; alternatives: amoxicillin [§] -clavulanate or ampicillin-sulbactam or ceftriaxone [‡] or ASP [¶]
5 yr old and older	IV ASP or cefazolin or clindamycin (high MRSA prevalence) When risk factors present (eg, SCD), other options may be considered such as ceftriaxone (± ASP or clindamycin)

Tabel 37 Tratamentul empiric inițial și rata de MRSA (*reprodus după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278)*)

TABLE 7. Initial Empirical Therapy and Rate of MRSA (Beyond 3 Months of Age)

Regional Rate of MRSA— Low/High at 10%–15%	Recommended Initial Empirical Therapy*
Low rate of MRSA or culture-negative infections	<ul style="list-style-type: none"> • First or second generation cephalosporins • Alternatives: Anti-staphylococcal penicillins or third G cephalosporins[†]
High rate of MRSA	<ul style="list-style-type: none"> • Clindamycin ± rifampin[‡] ± anti-staphylococcal beta-lactam
High rate of MRSA plus severe infection without preliminary results or high-rate clindamycin resistance or in case of failure to respond to initial therapy	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomycin or teicoplanin ± rifampin[‡] ± clindamycin • Alternative: Daptomycin or linezolid (MRSA-IDS guidelines)⁶⁵ • Always consider adding a beta-lactam until MRSA is confirmed • Intravenous immunoglobulin may be added where toxin-mediated systemic symptoms (ie, toxic shock syndrome) are suspected

Tabel 38 Patogenii și tratamentul antibiotic (în funcție de condițiile de rezistență locală (după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. *Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J.* 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278))

TABLE 8. Pathogens and Antibiotic Treatment (According to Local Resistance Patterns)

Pathogen	Antibiotic Considerations
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • ASP, first-generation (G) cephalosporins^{8,23} • Clindamycin—if sensitive MRSA isolated (it may also be used for MSSA) • Trimethoprim-sulfamethoxazole*—in clindamycin-resistant cases, 99% of the MRSA strains are susceptible⁷⁴
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Penicillin, ampicillin or amoxicillin
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ampicillin, amoxicillin or second to third G cephalosporins • In the very unusual situation of high beta-lactam resistance may use vancomycin, linezolid or levofloxacin
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	<ul style="list-style-type: none"> • Second G cephalosporins or amoxicillin–clavulanate (or ampicillin–sulbactam) • Some strains may be resistant to second G cephalosporins and/or amoxicillin–clavulanate: third G cephalosporins may be used
<i>Kingella kingae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitive to cephalosporins and penicillins²⁷ • Resistant to clindamycin, vancomycin, linezolid, daptomycin; ASP not optimum • Rarely produces beta-lactamases
<i>Salmonella</i> species	<ul style="list-style-type: none"> • Ceftriaxone or cefotaxime • PO: amoxicillin or quinolones,⁸² according to sensitivity
<i>Escherichia coli</i> and other enterobacteria	<ul style="list-style-type: none"> • According to sensitivity—amoxicillin–clavulanate or second/third G cephalosporins or others
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • According to sensitivity—ciprofloxacin PO
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ceftriaxone or cefotaxime (or PO third generation cephalosporins)

Tabel 39 Posibile complicații și sechele (după Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. *Bone and Joint Infections. Pediatr Infect Dis J.* 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635. PMID: 28708801(278))

Outcome and Complications	Notes/Remarks
Persistent fever	<ul style="list-style-type: none"> • Look out for complications or resistant pathogen
OM-SA	<ul style="list-style-type: none"> • In certain <i>Staphylococcus aureus</i> infections—relatively common in <18 months and hip/shoulder* • It may be associated with higher rate of complications or sequelae⁵
Pyomyositis	<ul style="list-style-type: none"> • More frequent in pelvic involvement and with MRSA/PVL+
Discitis/vertebral OM	<ul style="list-style-type: none"> • Supportive corset might be beneficial
Abscess, sequestrum	<ul style="list-style-type: none"> • Surgery may be needed
DVT	<ul style="list-style-type: none"> • May be life-threatening and high risk of pulmonary thromboembolism • Risk factors: femoral OM, male sex, MRSA/PVL+^{101,102} • Some experts may recommend low-weight molecular heparin until resolved
Relapse or chronic infection	<ul style="list-style-type: none"> • If eradication of infection failed
Chronic OM	<ul style="list-style-type: none"> • Important early diagnosis and therapy to avoid it • Surgery and prolonged antibiotic therapy frequently needed • Major health problem in the resource-poor settings • Most common cause of pathologic fracture
Reinfections with another agent (not recurrence)	<ul style="list-style-type: none"> • Possible but very unusual • Not a sign of treatment failure
Bone deformity, for example, avascular necrosis of the femoral head, joint cartilage destruction in SA	<ul style="list-style-type: none"> • Feared sequelae • More frequent with late diagnosis and therapy⁹⁶
Decreased movement, residual pain, rigidity	<ul style="list-style-type: none"> • Physical therapy may be needed
Mortality	<ul style="list-style-type: none"> • Very unusual in an immunocompetent host in high-income countries

II.1.c. Rezistența la antibiotice în cadrul infecțiilor de tract urinar

Una dintre preocupările mele constante a fost și situația rezistenței la antibiotice, mai ales la vârstă mică, de nou-născut și sugar sub 3 luni. În sprijinul acestei afirmații vine articolul publicat în anul 2020 legat de infecțiile urinare ale vârstei de nou născut, dar mai ales ale recurențelor acestora.

Am studiat un lot de 191 de sugari care au prezentat infecții de tract urinar, corect diagnosticate, conform definițiilor de caz.

Tabel 40 Patogenii identificați la primul episod de ITU și distribuția lor (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Vorovenci C, Lixandru R, Rochman F, Monescu V, Leibovitz R, Bleotu L, Falup-Pecurariu C. First UTI episode in life in infants <1 year of age: Epidemiologic, clinical, microbiologic and disease recurrence characteristics. Pediatr Neonatol. 2020 Dec;61(6):613-619. doi: 10.1016/j.pedneo.2020.07.008*).

Pathogen	No. isolates (total)	%	Single pathogen	%	Two pathogens	%
<i>Escherichia coli</i>	127	58.5	105	63.6	22	42.3
<i>Klebsiella</i> spp.	53	24.4	38	23.0	15	28.9
<i>Enterococcus</i> spp.	16	7.4	9	5.5	7	13.5
<i>Proteus mirabilis</i>	6	2.8	2	1.2	4	7.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	2.8	5	3.0	1	1.9
<i>Enterobacter</i> spp.	2	0.9	1	0.6	1	1.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0.9	2	1.2	–	–
Other	5	2.3	3	1.9	2	3.8
Total	217		165		52	

Tabel 41 Caracteristicile epidemiologice și microbiologice la episoade recurente de infecție de tract urinar (ITU) (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Vorovenci C et al. First UTI episode in life in infants under 1 year of age epidemiological clinical microbiological and disease recurrence characteristics. Pediatr Neonatology. 2020; 61(6): 613-619*)

	No patients (%)
Age at initial episode (months, mean ± SD, median)	3.02 ± 2.39 (2)
Age at first recurrence (months, mean ± SD, median)	5.1 ± 2.81 (5)
Time of recurrence after index UTI episode (months)	
- 0–1 months	7 (21.9)
- 1–2 months	10 (31.3)
- 3–6 months	13 (40.6)
- 7–12 months	2 (6.2)
Gender M/F	24 (75)/8 (25)
Renal pathology (on Ultrasound at recurrence) ^a	
- Hydronephrosis ^b	5 (16.1)
- Double pyeloureteral system	1 (3.2)
- Megaureter	1 (3.2)
Uropathogens isolated (n = 32)	
- <i>E. coli</i>	13 (40.6)
- <i>Klebsiella</i> spp.	12 (37.5)
- <i>Enterococcus</i> spp.	4 (12.5)
- <i>Enterobacter</i> spp.	2 (6.3)
- <i>P. mirabilis</i>	1 (3.1)
- ESBL-producing uropathogens ^c	10 (31.3)
No. patients with normal urinalysis (dipstick) ^d	11 (39.2)
Antibiotic prophylaxis since index episode ^e	15 (50)

^a Data available on 31 patients.
^b Degree 2, 3 and 4 in 2, 2 and 1 patients, respectively.
^c 5 *E. coli*, 1 *Klebsiella* spp.
^d Data available for 28 patients.
^e Data available for 30 patients.

Dintre cei 191 de pacienți, 32 au prezentat infecții recurente de tract urinar. Rezistența bacteriei *E.coli* la antibiotice s-a menținut ridicată la marea majoritate a claselor de antibiotice utilizate.

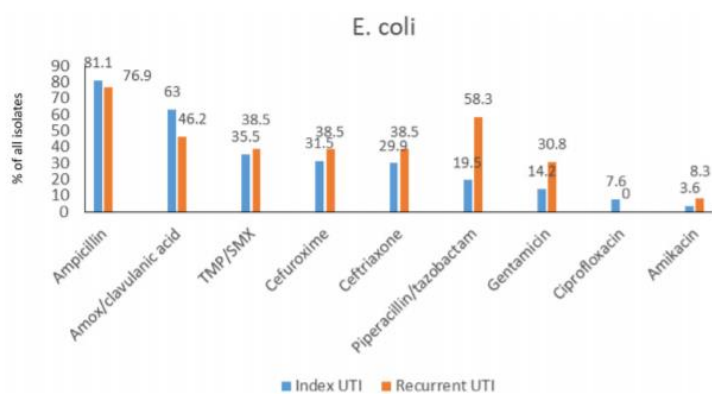


Figura 10 Rezistența bacteriei *E.coli* la antibiotice în infecțiile de tract urinar, index și în cele recurente (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Vorovenci C et al. First UTI episode in life in infants under 1 year of age epidemiological clinical microbiological and disease recurrence characteristics. Pediatr Neonatology. 2020; 61(6): 613-619*)

Klebsiella cel de al doilea patogen ca și frecvență în infecțiile de tract urinar s-a menținu de asemenea cu rate înalte de rezistență.

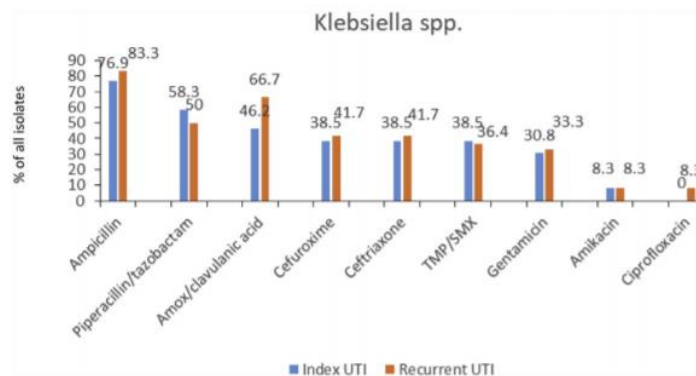


Figura 11 Rezistența bacteriei *Klebsiella spp* la antibiotice (reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Vorovenci C et al. First UTI episode in life in infants under 1 year of age epidemiological clinical microbiological and disease recurrence characteristics. *Pediatr Neonatology*. 2020; 61(6): 613-619)

Rezultatele studiului nostru, cel de al doilea legat de infecțiile de tract urinar, demonstrează o rată înaltă de rezistență la antibiotice în cadrul spitalului nostru, ceea ce face dificilă abordarea acestei patologii încadrându-ne strict la recomandările ghidurilor (278).

În continuarea studiului rezistenței la antibiotice am analizat, în cadrul celui de al doilea studiu legat de infecțiile de tract urinar la copii (Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Bucur M et al. High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalised with first urinary tract infection. *Biomed Res*.2017; 28(20): 1-6), rezistența înaltă la antibiotice în județul nostru. Am considerat pacienții cu vârsta de sub 3 luni, la care am obținut următoarele rezultate.

Tabel 42 Tablou clinic și paraclinic la internare (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Bucur M et al. High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalised with first urinary tract infection. Biomed Res.2017; 28(20): 1-6*)

Fever at admission	No. patients (%)
<38.0°C	84 (71.8%)
38.1-39.0°C	29 (24.8%)
>39.1°C	4 (3.4%)
WBC/mm ³	
Mean ± SD	12.0 ± 5.1
Range	2.4-33.500
Leukocytosis>15.000	20 (17.1%)
Leukopenia <5000	2 (1.7%)
Polymorphonuclears (mean ± SD)	4.0 ± 2.9
Neutropenia<1500	5 (4.3%)
Hb = 10 mg	20 (17.1%)
Platelets (mean ± SD)	438.1 ± 152.4
>150.000/mm ³	117 (100%)
CRP (mg/dl)*	
No. patients with available data=73	
Mean ± SD	3.6 ± 4.9
Range	0.19-21.65
>1 mg/dl	31 (42.5%)
Urea>40 mg (%)	5 (4.3%)
Creatinine>0.4 mg (%)	37 (31.6%)
Abnormal liver function tests (%)	30 (25.6%)

Din perspectiva agenților etiologici avem următoarele rezultate (Tabel 43):

Tabel 43 Distribuția patogenilor (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Bucur M et al. High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalised with first urinary tract infection. Biomed Res.2017; 28(20): 1-6*)

Table 2. Pathogen distribution: 117 cases of UTI in 117 infants aged 0-3 months.

Pathogens	n (%)
- <i>Escherichia coli</i>	68 (58.1%)
- <i>Klebsiella</i> spp.	35 (29.9%)
- <i>Proteus</i> spp.	5 (4.3%)
- <i>Enterobacter</i> spp.	3 (2.6%)
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 (1.7%)
- <i>Enterococcus</i> spp.	2 (1.7%)
- Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	2 (1.7%)
- Total	117

După cum vedem pe primul loc se găsește *E.coli* urmat de *Klebsiella*, în timp ce distribuția rezistenței la antibiotice la data publicării studiului a fost graficului de mai jos:

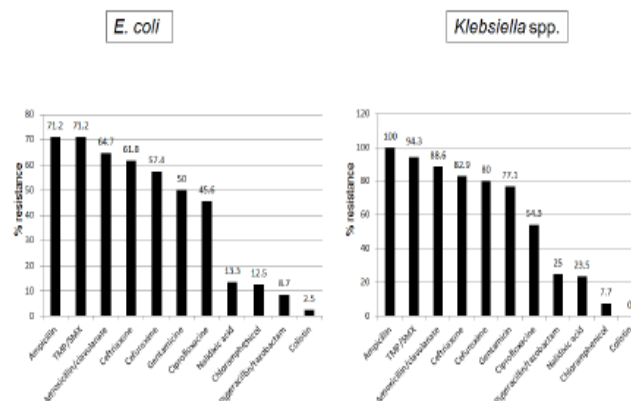


Figura 12 Rezistența patogenilor E. coli și Klebsiella spp la tratamentul antibiotic de elecție pentru ITU la copii (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Bucur M et al. High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalised with first urinary tract infection. Biomed Res.2017; 28(20): 1-6*)

Distribuția patogenilor corespunzătoare vârstei arată astfel:

Tabel 44 Distribuția patogenilor în funcție de vârsta copiilor (*reprodus după Falup Pecurariu O, Leibovitz E, Bucur M et al. High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalised with first urinary tract infection. Biomed Res.2017; 28(20): 1-6*)

Table 3. Pathogen distribution according to age subgroups.

Pathogen	0-1 months n=44	1-2 months n=43	2-3 months n=30	Total N=117
<i>Escherichia coli</i>	24 (54.5%)	25 (58.2%)	19 (63.3%)	68
<i>Klebsiella</i> spp.	13 (29.6%)	14 (32.6%)	8 (26.7%)	35
<i>Proteus</i> spp.	2 (4.5%)	1 (2.3%)	2 (6.7%)	5
<i>Enterobacter</i> spp.	2 (4.5%)	1 (2.3%)	-	3
<i>Enterococcus</i> spp.	1 (2.3%)	1 (2.3%)	-	2
<i>Pseudomonas</i> spp.	1 (2.3%)	-	1 (3.3%)	2
Non- <i>E. coli</i> Gram-negative organisms	19 (43.2%)	17 (39.5%)	11 (36.7%)	47
Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	1 (2.3%)	1 (2.3%)	-	2

De remarcat rezistența mare la cefalosporinele de generația a doua și a treia, impunând modificarea protocoalelor locale de tratament (280). Aceste rezultate au avut un rezultat imediat, prin implementarea în cadrul secției a metodelor corecte de recoltare a urinei și prin instituirea unor scheme de tratament adaptate rezistenței locale la antibiotice.

II.1.d. Markeri de inflamație în patologia oncologică

Tot în aceeași notă a rezistenței la antibiotice și markeri de inflamație se înscrie și studiul efectuat împreună cu colectivul de la Beer Sheva (281).

Scopul studiului a fost de a determina asociația între parametri clinici și de laborator și bacteriemie. Studiul a fost prospectiv, desfășurat între 2007 și 2010 în Unitatea de Oncologie Pediatrică Soroka. Au fost 195 episoade de neutropenie febrilă la 73 de copii, bacteriemia a fost identificată în 38 (19%) episoade. Bacteriile Gram pozitive, Gram negative și fungii au cauzat 47%, 43% și respectiv 10% din toate bacteriemiiile. Principalele caracteristici clinice se regăsesc în Tabelul 45:

Tabel 45 Caracteristicile demografice la pacienții oncologici cu febră și neutropenie: comparație între episoadele cu bacteriemie și cele fără bacteriemie. BSI-blood stream infection bacteriemie (*reprodus după Hazan G, Ben-Shimol S, Fruchtmann Y, Abu-Quider A, Kapelushnik J, Moser A, Falup-Pecurariu O, Greenberg D. Clinical and laboratory parameter dynamics as markers of blood stream infections in pediatric oncology patients with fever and neutropenia. J Pediatr Hematol Oncol. 2014 Jul;36(5):e275-9. doi: 10.1097/MPH.0000000000000057*)

TABLE 1. Demographic Characteristics of Oncologic Children With Fever and Neutropenia: Comparison Between BSI and Non-BSI Episodes

	Total	%		P
		BSI (N = 38)	Non-BSI (N = 157)	
Age (y ± SD)	Mean	9.5 ± 5.9	8.3 ± 5.2	0.2
Sex (n [%])	Males (112 [57.5])	55.3	58.0	0.9
Ethnicity (n [%])	Jewish (99 [50.8])	55.3	49.7	0.7
Maximum temperature (range) (C°)	Median	39.0 (38.2-40)	38.7 (38-40)	0.08
Tumor (n [%])	Solid (75 [38.5])	31.6	40.1	0.3
	Nonsolid (120 [61.5])	68.4	59.9	
Stage (n [%])	Induction (75 [38.5])	32.4	40.4	0.5*
	Maintenance therapy (110 [56.4])	64.9	54.5	
	Relapse (10 [5])	2.7	5.1	

*P-value related to all 3 groups in comparison.
BSI indicates blood stream infection.

Valoarea parametrilor de laborator se poate regăsi în Tabelul 46.

Tabel 46 Caracteristicile paraclinice la internarea pacienților oncologici cu febră și neutropenie: comparație între episoadele cu bacteriemie și cele fără bacteriemie . BSI Blood stream infection bacteriemie (*reprodus după Hazan G, Ben-Shimol S, Fruchtmann Y, Abu-Quider A, Kapelushnik J, Moser A, Falup-Pecurariu O, Greenberg D. Clinical and laboratory parameter dynamics as markers of blood stream infections in pediatric oncology patients with fever and neutropenia. J Pediatr Hematol Oncol. 2014 Jul;36(5):e275-9. doi: 10.1097/MPH.0000000000000057*)

TABLE 2. Laboratory Parameters on Admission of Oncologic Children With Fever and Neutropenia: Comparison Between BSI and Non-BSI Episodes

	Mean ± SD		P
	BSI (N = 38)	Non-BSI (N = 157)	
Monocyte count (cells/mm ³)	0.06 ± 0.1	0.14 ± 0.33	0.05
Leukocyte count (cells/mm ³)	1.4 ± 2.1	1.05 ± 2.04	0.4
Lymphocyte count (cells/mm ³)	0.44 ± 0.48	0.5 ± 1.1	0.7
Basophil count (cells/mm ³)	0.005 ± 0.01	0.003 ± 0.01	0.4
Eosinophil count (cells/mm ³)	0.03 ± 0.04	0.02 ± 0.04	0.25
Platelet count (cells/mm ³)	103.4 ± 143.3	81.3 ± 99.3	0.3
C-reactive protein (mg%)	13.7 ± 3.6	5.6 ± 6.5	0.06

BSI indicates blood stream infection.

Curbele de evoluție ale markerilor de inflamație pentru infecțiile bacteriene cu hemoculturi pozitive comparativ cu cele cu hemoculturi negative sunt reprezentate în Figura 13.

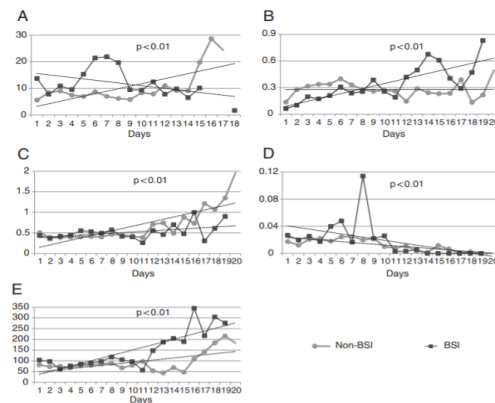


FIGURE 1. Dynamics of laboratory parameters through hospitalization in pediatric oncologic patients with fever and neutropenia: comparison between BSI and non-BSI episodes. A, C-reactive protein; B, monocyte count (cells/mm³); C, lymphocyte count (cells/mm³); D, eosinophil count (cells/mm³); E, platelet count (cells/mm³). BSI indicates blood stream infection.

Figura 13 Dinamica investigațiilor de laborator pe parcursul internării la pacienții oncologici cu febră și neutropenie: comparație între episoadele cu bacteriemie și cele fără bacteriemie. A. Proteina C reactivă, B. numărul de monocite (celule/mm³), C. numărul de limfocite (celule/mm³), D. numărul de eozinofile (celule/mm³), E. numărul de trombocite (celule/mm³), BSI Blood stream infection septicemie (*reprodus după Hazan G, Ben-Shimol S, Fruchtmann Y, Abu-Quider A, Kapelushnik J, Moser A, Falup-Pecurariu O, Greenberg D. Clinical and laboratory parameter dynamics as markers of blood stream infections in pediatric oncology patients with fever and neutropenia. J Pediatr Hematol Oncol. 2014 Jul;36(5):e275-9. doi: 10.1097/MPH.0000000000000057*)

Un element important al studiului nostru demonstrează valoarea de delimitare ("cut-off") a parametrilor utilizați de către colectivul de autori, în care erau considerați parametrii precum temperatura, monocitele, leucocitele, trombocitele și proteina C reactivă, toți parametrii putând fi utilizați cu ușurință în practica curentă.

II.1.e. Patologia digestivă și implicațiile pentru practica curentă

Momentul publicării articolului nostru a fost acela al clusterului de cazuri de sindrom hemolitic uremic care a afectat populația pediatrică, inclusiv cea din județul nostru în anul 2016.

A fost un studiu prospectiv, efectuat în perioada martie-decembrie 2016 și a inclus 722 copii cu vârste cuprinse între 1 și 30 luni spitalizați cu diaree acută. Probele de scaun au fost testate pentru prezența Shiga Toxin type 1 (STX1) și tip 2 (STX2) și alți enteropatogeni. Datele demografice ale studiului nostru au arătat astfel:

Tabel 47 Date demografice, caracteristicile clinice și microbiologice la 46 de copii cu vârsta cuprinsă între 1-30 luni internați pentru diaree și infecție STEC. STEC Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (*E. coli* producătoare de toxina Shiga) (*reprodus după Falup-Pecurariu O, Lixandru RI, Cojocar E, Csutak K, Monescu V, Muhsen K, Falup-Pecurariu C, Cohen D. Shiga toxin producing Escherichia coli-associated diarrhea and hemolytic uremic syndrome in young children in Romania. Gut Pathog. 2019 Sep 25;11:46. doi: 10.1186/s13099-019-0327-4*)

Table 1 Demographic, clinical and microbiological characteristics of 46 children aged 1–30 months hospitalized with acute diarrhea and STEC infection

Characteristics	Number (%)
Sex	
Males	31 (67.4%)
Females	15 (32.6%)
Age (months)	
Mean (standard deviation)	10.3 (6.5)
1–5	13 (28.3%)
6–11	15 (32.6%)
12–30	18 (39.1%)
Ethnicity	
Caucasian	29 (63.0%)
Roma	17 (37.0%)
Gestational age at birth	
Term delivery	40 (87.0%)
Low grade premature	6 (13.0%)
Birth weight (kg)	
2.2–2.4	6 (13.0%)
2.5–4.2	40 (87.0%)
Clinical manifestation	
Diarrhea	46 (100.0%)
Bloody diarrhea	15 (32.6%)
Vomiting	24 (52.2%)
Fever $\geq 38^\circ\text{C}$	23 (50.0%)
White blood cells (cells/mcL)	
< 10,000	28 (60.9%)
$\geq 10,000$	18 (39.1%)
Neutrophils (cells/mcL)	
1400–4600	23 (50.0%)
4601–13,000 cells/mcL	23 (50.0%)
Hemoglobin, gr/dL	
< 11	17 (37.0%)
≥ 11	29 (63.0%)
C reactive protein	
< 1	44 (95.7%)
≥ 1	2 (4.3%)
Duration of hospitalization (days)	
Minimum–maximum	1–14
Median (interquartile range)	5 (2)
Mixed infection	
With rotavirus	13 (28.2%)
With adenovirus	7 (15.2%)
With <i>Salmonella</i>	1 (2.1%)

thrombocytopenia (mean platelet count 73,000 cells/mcL (range 37,000 to 138,000 cells/mcL). The mean hemoglobin level at admission was 9.2 g/dL (standard deviation 1.8). Ten patients had the hematocrit lower than 30.0% (mean in 11 HUS cases: 24.7%, range 17.2% to 30.2%) and all had serum creatinine levels above the

Ce a adus însă în plus acest studiu, a fost faptul că am studiat la distanță comportamentul a două focare epidemice de sindrom hemolitic uremic în cadrul județului nostru.

Tabel 48 Caracteristici demografice, clinice și de laborator la copii cu vârsta cuprinsă între 5-30 luni internați pentru sindrom hemolitic-uremic la Brașov, România, în perioada 2014-2016 (reprodus după Falup-Pecurariu O, Lixandru RI, Cojocaru E, Csutak K, Monescu V, Muhsen K, Falup-Pecurariu C, Cohen D. *Shiga toxin producing Escherichia coli-associated diarrhea and hemolytic uremic syndrome in young children in Romania. Gut Pathog.* 2019 Sep 25;11:46. doi: 10.1186/s13099-019-0327-4)

Table 2 Demographic, clinical and laboratory characteristics of children aged 5–30 months hospitalized with hemolytic uremic syndrome, Brașov, Romania, 2014–2016

Total number of patients	11
Age	Mean: 20 months Median: 10 months Range: 5–30 months
Female/male ratio	6/5
Prodromal diarrhea	10
Bloody diarrhea	4
Vomiting	9
Fever ≥ 38 °C	4
Hematuria	11
Proteinuria	11
Oliguria	5
White blood cells count $\geq 15,000$ cells/mL	8
Trombocytopenia (mean 73,000 cells/mL)	11
Hematocrit < 30%	10
Serum creatinine levels ≥ 3.64 mg/dL	11

Data presented are absolute number unless mentioned otherwise

Ce a demonstrat în plus studiul colectivului nostru, a fost prevalența înaltă a Shiga like toxin în județul Brașov, atrăgând atenția asupra rezervorului constant de cazuri de sindrom hemolitic uremic (282).

II.1.f. Terapiile imunomodulatoare la copii

Studiul sub conducerea Prof. Esposito arată de fapt că nici unul dintre imunostimulentele utilizate în practica pediatrică, respectiv Pidotimod care este un dipeptid sintetic utilizat în unele țări din Europa și din America de Sud dar și în China. Deși studiile s-au dovedit a fi încurajatoare pentru cercetători totuși s-au ridicat numeroase semne de întrebare întrucât un număr mic dintre aceste studii au fost publicate în jurnale peer-reviewed. Mai departe a fost discutată eficiența lizatelor bacteriene OM-85 utilizat pe scară largă în întreaga Europa. Este unul dintre preparatele care beneficiază de studii comparative cu rezultate bune care susțin utilizarea lui în prevenția recurențelor respiratorii.

Ribomunyl este un alt preparat cunoscut pediatrilor dar și medicilor de familie. Datele care vin din studiile clinice sunt însă extrem de puține au înrolat un număr relativ restrâns de copii de aceea este relativ greu să se tragă o concluzie clară.

Polizaharidele biologice active sunt și ele preparate utilizate în terapia recurențelor respiratorii

Cu toate acestea există un singur studiu care respectă elementele științifice și de aceea nici despre aceste preparate nu putem afirma că sunt imunomodulatoarele dorite de noi.

Probioticele sunt dintre cele mai utilizate și marchetate imunomodulatoare. Ele au beneficii certe asupra disbiozei și mai ales asupra reglării motilității tubului digestiv. Cu toate acestea beneficiile lor asupra otitelor acute medii este neclar.

Vitaminele sunt cunoscute din cele mai vechi timpuri iar cercetări recente au dovedit că ele au roluri mult mai complexe decât cele pentru care le utilizăm în mod frecvent.

Medicamentele homeopate au însă parte de cele mai negative rezultate la o analiză a studiilor publicate legate de acest subiect (283).

Tabel 49 Consensul privind produsele folosite pentru infecțiile de tract respirator superior (reprodus după *Esposito S, Jones MH, Feleszko W, Martell JAO, Falup-Pecurariu O, Geppe N, Martín-Torres F, Shen KL, Roth M, Principi N. Prevention of New Respiratory Episodes in Children with Recurrent Respiratory Infections: An Expert Consensus Statement. Microorganisms. 2020 Nov 17;8(11):1810. doi: 10.3390/microorganisms8111810*)

Table 1. Consensus statements on products used for prevention of respiratory tract infections (RTIs) in RTI-prone children.

Product	Main Data	Main Limitations	Consensus Statement and Suggestions for Future Research
Pidotimod	Positive influence on innate and adaptive immunity in vitro, efficacy in prevention of RTIs in RTI-prone children, duration and severity of respiratory symptoms, antibiotic use, good safety profile.	Licensed for children ≥ 3 yrs, to be given 2 hrs before or after meals, available only in few countries, few studies available with sufficient details on randomization method and using blind approach, heterogeneity in dosages and schedule of administration.	Pidotimod could play a role in prevention of respiratory recurrences in RTI-prone children ≥ 3 yrs old, although further randomized, double-blind studies are needed to confirm population that could have advantages and to define the dosages and schedule of administration.

Table 1. Cont.

Product	Main Data	Main Limitations	Consensus Statement and Suggestions for Future Research
OM-85	Positive influence on innate and adaptive immunity in vitro, downregulation of inflammatory state, efficacy in prevention of RTIs in RTI-prone children, duration and severity of respiratory symptoms, antibiotic use, days of absence from day-care of children and working days lost by parents, efficacy in children with recurrent wheezing and asthma, excellent safety profile.	Absence of biomarkers able to predict the best responder profile and a precise-host tailored medicine.	OM-85 should be recommended for prevention of respiratory recurrences in RTI-prone children ≥ 6 months old, although further studies on detection of biomarkers able to support the identification of best responder profile and a precise-host tailored medicine are needed.
Ribomunyl	Modulation of innate and adaptive immunity in vitro, some clinical evidence in reduction of RTI and antibiotic courses.	Availability of few studies with enrolment of a relatively low number of children. Not available on the market worldwide anymore.	Ribomunyl cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.
PBML and LW50020	Stimulation of innate and adaptive immunity in vitro.	Few clinical evidences.	PBML and LW50020 cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.
B-glucans	Enhancement of activity of innate and adaptive immunity in vitro.	Contrasting results in efficacy against respiratory recurrences, good safety and tolerability profile.	B-glucans cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.
Probiotics	Modulation of innate and adaptive immunity in vitro, main data on <i>Lactobacillus</i> spp. and <i>Bifidobacterium</i> spp. that in some studies reduced episodes of upper RTI, antibiotic use and school absences.	Very few data on RTI-prone children, heterogeneity in type of probiotic tested, dose and duration of administration.	Probiotics cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.
Vitamins	Vitamin A and vitamin C: No reliable data on vitamin A and vitamin C. Vitamin D: Modulation of innate and adaptive immunity in vitro, safe protection against acute RTIs, with major benefits in very deficient individuals and those not receiving bolus doses.	Vitamin A and vitamin C: No evidence for the prevention of RTIs in children. Vitamin D: Few data on RTI-prone children.	Vitamin A and vitamin C cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children. Vitamin D could play a role in children with recurrent RTIs, although further methodologically adequate studies in RTI-prone children are needed to clarify the lowest minimum vitamin D serum level associated with an increased risk of RTIs, the most effective dosage, schedule of administration and duration of treatment.
Echinacur	Stimulation of macrophage with production of cytokines as well as antiviral and antibacterial action in vitro.	No evidence for the prevention of RTIs in humans.	Echinacur cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.
Honeybee products (propolis and royal jelly).	Antioxidant, immunomodulatory, antibacterial, antiviral and anti-inflammatory properties in vitro.	Effect in only one study on recurrent acute otitis media; absence of well-conducted studies including RTI-prone children suffering from RTIs other than otitis.	Honeybee cannot be recommended for the prevention of recurrences in RTI-prone children.

Anul pandemiei 2020 nu a rămas fără răsunet asupra activității noastre, de aceea sub îndrumarea Prof. David Goldblatt alături de alte centre de cercetare, am efectuat primul studiu legat de prezența anticorpilor anti COVID-19 la personalul medical, care demonstra la aceea dată că aproape nimeni dintre cadrele medicale, nu trecuse prin infecția cu COVID-19 și se arăta că trendul infectărilor ar avea un caracter ascendent, în paralel cu extinderea infecției (284). Articolul a apărut în 2021 (Goldblatt D, Johnson M, Falup-Pecurariu O, Ivaskeviciene I, Spoulou V, Tamm E, Wagner M, Zar HJ, Bleotu L, Ivaskevicius R, Papadatou I, Jōgi P, Lischka J, Franckling-Smith Z, Isarova D, Grandjean L, Zavadaska D. Cross-sectional prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in paediatric facilities in eight countries. *J Hosp Infect.* 2021 Apr;110:60-66. doi: 10.1016/j.jhin.2020.12.019).

SARS-CoV-2 a fost depistat prima oară în luna Decembrie 2019 și s-a răspândit rapid în întreaga lume, OMS declarând pandemie pe data de 11 martie 2020. După identificarea și secvențierea genetică a virusului, testele de diagnostic au devenit disponibile pentru identificarea virusului viu în secrețiile umane, urmate rapid de testele realizate pentru a măsura anticorpii serici împotriva antigenelor SARS-CoV-2.

Recent, OMS a indicat faptul că deși lucrătorii în domeniul sanitar reprezintă sub 3% din populație în marea majoritate a țărilor și sub 2% în aproape toate țările cu buget mic și mijlociu, aproximativ 14% din cazurile de COVID-19 raportate către OMS sunt din cadrul lucrătorilor în domeniul sanitar. În multe cazuri, seroprevalența s-a dovedit a fi semnificativ mai crescută la personalul din sectorul sanitar comparativ cu populația generală [285-288].

Seroprevalența a fost măsurată în cadrul lucrătorilor din domeniul sanitar pentru a ajuta la înțelegerea transmiterii potențiale ale SARS-CoV-2 în contextul expunerii nosocomiale, și pentru a oferi informații despre adevărata povară a infecției COVID-19 [289]. Din moment ce un număr relativ de copii au fost internați pentru COVID-19 la nivel global, lucrătorii din departamentele pediatrie au fost puțin probabil să se confrunte cu un risc semnificativ la expunere de la pacienții lor [290].

Acest studiu a fost conceput să compare ratele de pozitivare SARS-CoV-2 în cadrul lucrătorilor din domeniul sanitar ce activează în departamente pediatrie în șapte țări Europene și în Africa de Sud.

Acest studiu a fost inițiat la Spitalul Great Ormond Streed din Londra unde

personalul medical a fost invitat să participe într-un studiu prospectiv, longitudinal, de cohortă, despre serologia SARS-CoV-2. Colaboratorii din facilități pediatrice au fost invitați să se alăture într-un studiu multicentric cu un design similar. Personalul din toate categoriile în fiecare centru au fost invitați să se alăture studiului, indiferent de simptome sau dacă au suspiciunea că au avut COVID-19 anterior. Personalul care și-a exprimat acordul pentru participarea la studiu au oferit o probă unică de sânge, de 2mL și au completat un chestionar concentrat pe documentare simptomelor de COVID-19 de la debutul pandemiei, expunere anterioară cunoscută și rezultatul unui test PCR ARN SARS-CoV-2 dacă acesta a fost recoltat.

Probele au fost analizate la Laboratorul Internațional de Referință pentru Serologia Pneumococică la University College Londra pentru a depista prezența IgG împotriva proteinei nucleocapsidei SARS-CoV-2.

În total, 4114 lucrători din domeniul sanitar au fost recrutați între 1 mai-mijlocul lunii iulie 2020, din către cele nouă puncte de colectare, deși mărimea cohorței de studiu a variat semnificativ între centre (Tabelul 50).

Table 1
Overall demographics and results for the eight cohorts studied

Country	N of samples	% female	Age in years (mean, range)	Date of first nationally recorded case of COVID-19	Sample collection date range	N with clinical symptoms	N with positive PCR results	Proportion with positive PCR results	Proportion of cohort with symptoms	If symptomatic, time between symptom onset and blood test	N seropositive	seroprevalence rate (95% CI)	National COVID-19 rate/100,000 population at time of sampling
Austria	196	84.2	38, 22–65	25/02/2020	17–24/07/20	33	0	0	16.8	116 days	0	0 (0–1.92)	225.8
Estonia	130	96.2	50, 19–71	27/02/2020	10–12/06/20	23	0	0	17.7	96 days	0	0 (0–2.87)	148.2
Greece	77	77.6	45, 18–67	26/02/2020	19/06–16/07/20	0	0	0	0.0	0	1	1.3 (0.23–7.0)	34.5
Latvia	177	92.7	42, 20–73	03/03/2020	19/05–20/06/20	39	0	0	22.0	82 days	0	0 (0–2.14)	54.7
Lithuania	300	93.0	49, 22–70	28/02/2020	01–12/06/20	28	2	0.67	9.3	93 days	2	0.66 (0.18–2.4)	59.1
Romania	124	94.4	43, 21–65	26/02/2020	14/05/20–27/05/20	1	1	0.81	0.8	Not available	1	0.81 (0.14–4.3)	87.6
South Africa	222	78.8	41, 19–67	05/03/2020	10/06–17/08/20	69	17	7.66	31.1	46 days	23	10.36 (7–15.07)	974.4
UK	1754	65.5	38, 19–69	15/02/2020	01/05–31/05/2020	772	15	0.86	44.0	64 days	269	15.34 (13.73–17.1)	390.1
UK	1134	72.9	37, 19–78	15/02/2020	01/06–30/06/2020	869	15	1.32	76.6	89 days	192	16.93 (14.86–19.22)	459.1

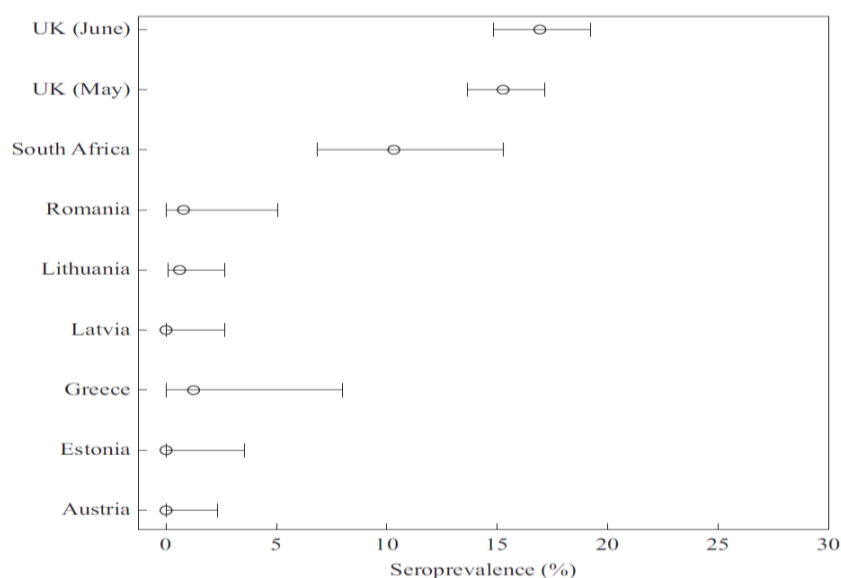
PCR, polymerase chain reaction; COVID-19, coronavirus disease 2019; CI, confidence interval.

Tabelul 50 Date demografice și rezultatele celor opt cohorte studiate (Goldblatt D, Johnson M, Falup-Pecurariu O, Ivaskeviciene I, Spoulou V, Tamm E, Wagner M, Zar HJ, Bleotu L, Ivaskevicius R, Papadatou I, Jögi P, Lischka J, Franckling-Smith Z, Isarova D, Grandjean L, Zavadzka D. Cross-sectional prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in paediatric facilities in eight countries. *J Hosp Infect.* 2021 Apr;110:60-66. doi: 10.1016/j.jhin.2020.12.019).

Proporția de lucrători în domeniul sanitar din fiecare cohortă ce au raportat simptome compatibile cu COVID-19 anterior recrutării a variat semnificativ: sub 1% (Grecia și România), 9-18% (Austria, Estonia, Lituania), 22% (Letonia) și 30-45% (Africa de Sud și Marea Britanie). Ratele seroprevalenței din trei/patru țări fără rezultate PCR

pozitive a fost zero, deși unul din 76 lucrători a testat pozitiv pentru IgG în Grecia. Similar, rate de seroprevalență scăzută au fost găsite în România (1/224 lucrători a testat pozitiv pentru IgG, 0.8%) și Lituania (2/300 lucrători au testat pozitiv pentru IgG, 0.66%). Seroprevalența în Cape Town a fost de 10.4% iar 15.4% respectiv 16.93% din cohorțele din luna mai respectiv iunie din Londra au testat pozitiv pentru IgG (Tabelul 51).

Pentru acele țări cu <100 cazuri per 100,000 locuitori (Grecia, Letonia, Lituania și România), ratele de seroprevalență au fost scăzute (0-1.3%). Marea Britanie și Africa de Sud au prezentat rate crescute de COVID-19 la momentul recrutării și acest aspect a fost reflectat în ratele crescute de seroprevalență.



Tabelul 51. Seroprevalența estimată pentru SARS-Cov-2 IgG antinucleocapsidă la lucrătorii din domeniul sanitar în cele opt țări participante (Goldblatt D, Johnson M, Falup-Pecurariu O, Ivaskeviciene I, Spoulou V, Tamm E, Wagner M, Zar HJ, Bleotu L, Ivaskevicius R, Papadatou I, Jõgi P, Lischka J, Franckling-Smith Z, Isarova D, Grandjean L, Zavadska D. Cross-sectional prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in paediatric facilities in eight countries. *J Hosp Infect.* 2021 Apr;110:60-66. doi: 10.1016/j.jhin.2020.12.019).

Datele de mobilitate Google (Google Mobility), ce au arătat schimbările în activitățile non-rezidențiale incluzând vizita la puncte comerciale, parcuri, condusul și utilizarea transportului public pentru ariile relevante din fiecare țară inclusă în acest studiu, au relevat câteva diferențe între țările dar niciuna nu pare a se fi corelat cu seroprevalența (Tabelul 52). Țările cu cea mai crescută seroprevalență au prezentat schimbări în mobilitate cu -40% (Africa de Sud) și -33% (Marea Britanie).

Scorul Oxford COVID-19 Government Response Tracker a fost comparat pentru fiecare țară la 100 zile după primul caz confirmat, ce a reprezentat aproximativ prima sau a doua săptămâna din luna iunie 2020 pentru toate cele opt țări din acest studiu (Tabelul 52).

Google Mobility and the Oxford COVID-19 Government Response Tracker for the eight participating countries

Country	Average Google mobility reduction in non-residential activity (%)	Oxford COVID-19 Government Response Tracker score (%)
Austria	-31	62
Estonia	-11	50
Greece	-37	63
Latvia	-19	70
Lithuania	-21	60
Romania	-42	50
South Africa	-40	90
UK	-33	75

Tabelul 52. Google Mobilty și Oxfort COVID-19 Government Response Tracker pentru cele opt țări participante (Goldblatt D, Johnson M, Falup-Pecurariu O, Ivaskeviciene I, Spoulou V, Tamm E, Wagner M, Zar HJ, Bleotu L, Ivaskevicius R, Papadatou I, Jõgi P, Lischka J, Franckling-Smith Z, Isarova D, Grandjean L, Zavadska D. Cross-sectional prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in paediatric facilities in eight countries. *J Hosp Infect.* 2021 Apr;110:60-66. doi: 10.1016/j.jhin.2020.12.019).

Lucrătorii în domeniul sanitar au continuat să muncească în timpul pandemiei, pentru a menține serviciile de sănătate, astfel fiind la risc crescut de expunere la SARS-CoV-2. Având în vedere că boala COVID-19 poate fi asimptomatică, metode adiționale sunt necesare pentru a estima adevărata povară a bolii și, prin urmare, numărul personalului medical care ar putea fi protejat ca urmare a recuperării după infecție.

Acest studiu are drept avantaj testarea într-un singur laborator. Personalul medical din fiecare centru participant a fost recrutat fără să țină cont de istoricul simptomatologiei clinice ce ar putea fi interpretată drept COVID-19, și altfel ar trebui considerat ca un eșantion imparțial de lucrători în domeniul sanitar. Toți participanții fac parte din departamente pediatrie. Toate cohortele din acest studiu au fost dominate de femei, așadar diferențe în ceea ce privește sexul ratelor de seroprevalență nu ar trebui să se suprapună cu diferențe notabile în cohortă, iar vârsta medie și intervalul de vârstă s-au suprapus semnificativ, fiind astfel comparabile.

Ca și în alte studii [291], a existat o discrepanță între procentul din personalul medical ce au raportat simptome compatibile cu COVID-19 și rata de seroprevalență. Acest fapt a fost cel mai pronunțat în cohorta din Marea Britanie din luna iunie 2020, unde 76.6% din cohortă au raportat simptome compatibile, deși seroprevalența a fost de 16.93%.

Autorii au găsit un studiu al seroprevalenței lucrătorilor din domeniul sanitar, din departamentele pediatrie din Spania [292], unde rata de seroprevalență a fost similară cu cea din populația generală, respectiv un studiu care a arătat o rată de prevalență pentru personalul medical al unui spital de copii din Argentina de 0.9%.

În concluzie, acest studiu arată că lucrătorii din domeniul sanitar din departamentele pediatrie au prezentat rate de seroprevalență similare cu populația generală. Deși acest fapt poate fi interpretat drept un succes al protecției în departamentele pediatrie, mai degrabă motivele pot fi reprezentate de absența expunerii nosocomiale sau lipsa transmiterii de la copii infectați la adulți, și astfel un risc de expunere la SARS-CoV-2 similar ca cel al populației generale.

Capitolul III. Evoluție și realizări academice

**(B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a
carierii**

1. Plan de dezvoltare a carierei profesionale

Voi încerca să dezvolt în continuare Secția Clinică I din cadrul Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii Brașov, care are ca principale specialități nou-născutul patologic precum și bolile digestive, în completă concordanță cu dezvoltarea cercetărilor care vor urma.

Pentru patologia neonatală, ne vom concentra pe o urmărire și monitorizare mai eficientă a dezvoltării nou născuților aflați în evidența noastră, cu o aplicare mai riguroasă a politicilor de alimentație naturală, cu sprijinirea mamelor care alimentează natural. Deasemenea, în lumina cercetărilor noastre, ne vom concentra eforturile în sprijinirea promovării programului Național de imunizare, în cadrul populației de vârstă mică.

Vom activa deasemenea în sprijinul dezvoltării bazei de urmărire a nou născuților proveniți mai ales din medii defavorizate.

La nivelul compartimentului de boli digestive, vom continua demersurile în sprijinirea constituirii unor registre locale de urmărire a bolilor cronice digestive, dar și a unui registru de monitorizare activă a germenilor infecțioși care au potențial de a dezvolta focare epidemice.

În perspectiva scăderii numărului de nou născuți, vom continua implementarea supravegherii active a dezvoltării neuropsihice, precum și a monitorizării la nivel local a tratamentului și recuperării bolilor cronice digestive precum colita ulcerativă, boala Crohn, intestinul iritabil alături de pancreatitele cronice dar și ulcerele și gastritele, întâlnite din ce în ce mai frecvent la vârsta școlară și adolescent.

Prin obținerea abilitării, se vor deschide posibilități de colaborare mai intensă cu colective de cercetare din țară și străinătate.

Principalele puncte de dezvoltare a carierei profesionale cuprind următoarele:

- preocupare pentru noi aptitudini de cercetare, de comunicare, didactice
- învățarea unor noi metode de predare, în special în domeniul virtual, cu dezvoltarea unor platforme educaționale în pediatrie
- comunicarea rezultatelor la congrese, conferințe locale, naționale și internaționale
- organizarea de congrese, simpozioane, școli de iarnă, cursuri educaționale în domeniul pediatriei, în special al bolilor infecțioase pediatrice
- publicarea rezultatelor cercetării în reviste din baze de date internaționale și cu factor de impact

- creșterea vizibilității colectivului pe care îl conduc, prin participarea la aceste manifestări educaționale, prin creșterea numărului și a valorii publicațiilor științifice
- participarea la diferite granturi de cercetare, în funcție de domeniul științific și axele prioritare.

2. Plan de dezvoltare al activității didactice

Studentii alături de rezidenți sunt una dintre principalele preocupări ale mele. Lărgirea și diversificarea orizonturilor cunoștințelor acestora, alături de stimularea producției științifice prin fructificarea datelor locale și publicarea acestora în reviste cu factor de impact rămâne unul dintre principalele puncte ale planului de dezvoltare.

Continuarea activității cu studenții, atât în cadrul programului de Medicină Generală din cadrul Facultății de Medicină, dar și cu cei de la Asistență Medicală și Balneofiziokinetoterapie pentru a realiza o legătură între cele trei discipline, aparent separate, dar care împreună asigură calitatea maximă a actului medical. Împreună cu studenții vom continua activitatea de cercetare epidemiologică la nivel comunitar, pentru a înțelege mai bine evoluția bacteriilor și virusurilor în comunitatea pediatrică din Brașov, dar mai ales vom studia evoluția impactului reducerii prescripției de antibiotice prin vaccinare în cadrul acesteia. În paralel vom continua programele de educație și de informare ale elevilor din cadrul liceelor din Brașov în vederea creșterii cunoștințelor legate de vaccinare, dar și informarea corectă legată de potențialele efecte secundare ale acestora.

Voi îmbunătăți metodele de predare didactică, pentru o mai eficientă modalitate de predare a materiei de pediatrie. Utilizarea activității de predare online, care a luat avânt în perioada pandemiei, a webinarilor, a utilizării platformelor virtuale, vor duce la o aprofundare a cunoștințelor.

Actualizarea cursurilor de pediatrie la fiecare an la care predau, va fi o preocupare permanentă.

Activitatea de mentorat, de întâlniri cu studenții, pentru a discuta cunoștințele neclare va fi permanent, de-a lungul anului universitar. Îndrumarea studenților pentru lucrări de diplomă, lucrări științifice, a rezidenților pentru comunicări și lucrări științifice, care să fie comunicate la manifestări educaționale naționale și internaționale și publicate în reviste cât mai prestigioase.

Voi continua organizarea de conferințe, școli de vară, webinarii, pentru a crește prestigiul disciplinei de Pediatrie și a Universității Transilvania Brașov

3. Plan de dezvoltare a activității științifice

A. În cadrul direcțiilor de cercetare pentru viitor, vom continua supravegherea eficienței vaccinului PCV 13 valent prin studiul portajului, dar și al numărului de otite medii, pneumonii și boli invazive de etiologie pneumococică. În cadrul acestei patologii vom evalua constant rezistența la antibiotice și vom continua publicarea de articole legate de rezistența locală, dar vom implementa modificările impuse de această rezistență la nivelul Spitalului Clinic de Copii Brașov, precum și în comunitatea pediatrică brașoveană.

B. O altă direcție de cercetare este studiul rezervorului de meningococ în cadrul populației pediatrice, dar și în cadrul populației de tineri elevi și studenți ai instituțiilor de învățământ din cadrul județului nostru.

C. Continuarea cercetărilor privind epidemiologia infecțiilor digestive determinate de rotavirus, precum și studiul impactului economic și de sănătate publică pe care vaccinarea anti-rotavirală l-ar avea pentru populația pediatrică.

D. Continuarea supravegherii active a infecțiilor digestive, determinate atât de bacterii cât și de celelalte virusuri digestive prin utilizarea PCR-RT. Aceste cercetări pot continua implementarea măsurilor de siguranță la nivelul populației pediatrice în ceea ce privește sindromul hemolitic uremic.

E. Supravegherea activă a infecțiilor asociate actului medical cu determinarea principalilor agenți cauzatori și studierea factorilor de risc asociați cu aceștia. Aici un loc deosebit de important îl are prezența *Clostridium difficile* la copil, unde vom studia portajul și boala la 0-2 ani.

F. Vom continua deasemenea, studiile noastre legate de etiologia virală a bronșiolitelor și de implementarea protocoalelor de diagnostic și de tratament ale acestora.

G. Continuarea studiului rezistenței la antibiotice pe principalii germeni cauzatori ai infecțiilor de tract urinar la sugarul mic, cu implementarea a noi protocoale de tratament.

Voi continua demersurile mele științifice pentru studiul rezervorului microbial al zonei unde activez.

Capacitatea de a coordona echipe de cercetare

Puncte tari

1. Experiența profesională ca și cercetător, conferențiar, șef secție clinică. În majoritatea timpului am condus echipe (în clinică, cercetare). Evaluarea s-a făcut prin numărul și calitatea publicațiilor științifice, lucrările prezentate la conferințe și congrese. Pe baza acestei activități, am fost aleasă în diferite poziții de conducere ale unor Societăți științifice
2. Formarea personală în cadrul unor Clinici repute din diferite țări
3. Spirit de echipă, de colaborare
4. Crearea de proiecte, granturi, linii de cercetare și colaborare internațională
5. Crearea unei echipe multidisciplinare care lucrează în domeniul cercetării etiologiei bolilor infecțioase pediatrice

Puncte slabe

1. Absența unui Laborator de bacteriologie și virusologie performant
2. Lipsa fondurilor de cercetare
3. Lipsa finanțării susținute a cercetării

Oportunități

1. Patologia complexă infecțioasă a populației pediatrice, cu număr mare de pacienți, cu o patologie diversă
2. Posibilitatea abordării multidisciplinare
3. Sprijin pentru comunicarea și publicarea rezultatelor cercetării

Amenințări

1. Lipsa de motivație a tinerilor față de cercetare
2. Absența unor posturi dedicate cercetării (gen post-doc)
3. Absența unei perioade de timp dedicate integral activității de cercetare
4. Lipsa de predictibilitate legislativă legată de posibilitățile de finanțare.

Doresc sa sprijin pe viitor membri echipei, sa lucreze independent pentru diferite proiecte de cercetare. Rezultatele cercetărilor urmând să fie prezentate la congrese și conferințe, în țară și străinătate.

Lucrările vor urmări dezvoltarea direcțiilor de cercetare deja stabilite.

Continuarea activității educaționale

Vom continua organizarea cursurilor cu focus bolile infecțioase în pediatrie sub egida Societății Europe de Boli Infecțioase Pediatriche.

Organizarea Școlii de Iarnă de Boli Infecțioase Pediatriche cu participarea lectorilor prestigioși din țară dar și străinătate, cu scopul de a oferi tinerelor generații de medici specialiști noutăți în domeniul bolilor infecțioase pediatriche dar și în domeniul vaccinologiei.

Continuarea activităților lunare de Club de Jurnal Medical, cu dezbaterile unor teme de mare actualitate în domeniul Pediatriche dar și al Bolilor Infecțioase, bucurându-ne de participarea lectorilor din străinătate.

Lărgirea colectivelor de cercetare cu continuarea cooperării în ceea ce privește domeniul bolilor infecțioase cu Facultatea din Beer Sheva, Soroka Medical Center dar și cu Universitatea de la Tel Aviv, alături de Universitatea din Creta (Grecia).

Participarea la conferințe locale, europene și mondiale

Este de asemenea una dintre îndatoririle mele, susținerea prezentării rezultatelor științifice în domeniul cercetării colectivului meu. Realizarea de schimburi științifice, precum și stabilirea de noi legături și grupuri de cercetare internaționale, vor îmbunătăți calitatea actului medical.

De asemenea, voi continua să activez în cadrul Societății Europene de Boli Infecțioase Pediatriche, dar și a Societății Naționale de Boli Infecțioase Pediatriche, încercând să realizez punți științifice între țara noastră și Europa.

(B-iii) Bibliografie

- 1) Abdullahi O, Karani A, Tigoi CC, Mugo D, Kungu S, Wanjiru E, Jomo J, Musyimi R, Lipsitch M, Scott JA. The prevalence and risk factors for pneumococcal colonization of the nasopharynx among children in Kilifi District, Kenya. *PLoS One*. 2012;7(2):e30787. doi: 10.1371/journal.pone.0030787.
- 2) Musher DM. How contagious are common respiratory tract infections? *N Engl J Med*. 2003 Mar 27;348(13):1256-66. doi: 10.1056/NEJMra021771.
- 3) Gwaltney JM Jr, Sande MA, Austrian R, Hendley JO. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. II. Relation of transfer of *S. pneumoniae* to incidence of colds and serum antibody. *J Infect Dis*. 1975 Jul;132(1):62-8. doi: 10.1093/infdis/132.1.62.
- 4) Engholm DH, Kilian M, Goodsell DS, Andersen ES, Kjærgaard RS. A visual review of the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 Nov 1;41(6):854-879. doi: 10.1093/femsre/fux037.
- 5) Robinow C, Kellenberger E. The bacterial nucleoid revisited. *Microbiol Rev*. 1994 Jun;58(2):211-32. doi: 10.1128/mr.58.2.211-232.1994.
- 6) Carvalho SM, Farshchi Andisi V, Gradstedt H, Neef J, Kuipers OP, Neves AR, Bijlsma JJ. Pyruvate oxidase influences the sugar utilization pattern and capsule production in *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS One*. 2013 Jul 3;8(7):e68277. doi: 10.1371/journal.pone.0068277.
- 7) Buckwalter CM, King SJ. Pneumococcal carbohydrate transport: food for thought. *Trends Microbiol*. 2012 Nov;20(11):517-22. doi: 10.1016/j.tim.2012.08.008.
- 8) Andersen GR, Nissen P, Nyborg J. Elongation factors in protein biosynthesis. *Trends Biochem Sci*. 2003 Aug;28(8):434-41. doi: 10.1016/S0968-0004(03)00162-2.
- 9) Kwon HY, Kim SW, Choi MH, Ogunniyi AD, Paton JC, Park SH, Pyo SN, Rhee DK. Effect of heat shock and mutations in ClpL and ClpP on virulence gene expression in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*. 2003 Jul;71(7):3757-65. doi: 10.1128/IAI.71.7.3757-3765.2003.
- 10) Calloni G, Chen T, Schermann SM, Chang HC, Genevaux P, Agostini F, Tartaglia GG, Hayer-Hartl M, Hartl FU. DnaK functions as a central hub in the *E. coli* chaperone network. *Cell Rep*. 2012 Mar 29;1(3):251-64. doi: 10.1016/j.celrep.2011.12.007.
- 11) Eldholm V, Johnsberg O, Haugen K, Ohnstad HS, Håvarstein LS. Fratricide in *Streptococcus pneumoniae*: contributions and role of the cell wall hydrolases CbpD, LytA and LytC. *Microbiology (Reading)*. 2009 Jul;155(Pt 7):2223-2234. doi: 10.1099/mic.0.026328-0.
- 12) Rooney SA. Regulation of surfactant secretion. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001 May;129(1):233-43. doi: 10.1016/s1095-6433(01)00320-8.

- 13) Vollmer W, Bertsche U. Murein (peptidoglycan) structure, architecture and biosynthesis in *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta*. 2008 Sep;1778(9):1714-34. doi: 10.1016/j.bbamem.2007.06.007.
- 14) Hakenbeck R, Brückner R, Denapaite D, Maurer P. Molecular mechanisms of β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Future Microbiol*. 2012 Mar;7(3):395-410. doi: 10.2217/fmb.12.2.
- 15) Barreteau H, Kovac A, Boniface A, Sova M, Gobec S, Blanot D. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev*. 2008 Mar;32(2):168-207. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00104.x.
- 16) Johnston C, Campo N, Bergé MJ, Polard P, Claverys JP. *Streptococcus pneumoniae*, le transformiste. *Trends Microbiol*. 2014 Mar;22(3):113-9. doi: 10.1016/j.tim.2014.01.002.
- 17) Johnston C, Martin B, Fichant G, Polard P, Claverys JP. Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control, *Nat Rev Microbiol* 2014, 12(3): 181-196.
- 18) Barocchi MA, Ries J, Zogaj X, Hemsley C, Albiger B, Kanth A, Dahlberg S, Fernebro J, Moschioni M, Massignani V, Hultenby K, Taddei AR, Beiter K, Wartha F, von Euler A, Covacci A, Holden DW, Normark S, Rappuoli R, Henriques-Normark B. A pneumococcal pilus influences virulence and host inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Feb 21;103(8):2857-62. doi: 10.1073/pnas.0511017103.
- 19) Bagnoli F, Moschioni M, Donati C, Dimitrovska V, Ferlenghi I, Facciotti C, Muzzi A, Giusti F, Emolo C, Sinisi A, Hilleringmann M, Pansegrau W, Censini S, Rappuoli R, Covacci A, Massignani V, Barocchi MA. A second pilus type in *Streptococcus pneumoniae* is prevalent in emerging serotypes and mediates adhesion to host cells. *J Bacteriol*. 2008 Aug;190(15):5480-92. doi: 10.1128/JB.00384-08.
- 20) Barbier D, Garcia-Verdugo I, Pothlichet J, Khazen R, Descamps D, Rousseau K, Thornton D, Si-Tahar M, Touqui L, Chignard M, Sallenave JM. Influenza A induces the major secreted airway mucin MUC5AC in a protease-EGFR-extracellular regulated kinase-Sp1-dependent pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012 Aug;47(2):149-57. doi: 10.1165/rcmb.2011-0405OC.
- 21) Richard AL, Siegel SJ, Erikson J, Weiser JN. TLR2 signaling decreases transmission of *Streptococcus pneumoniae* by limiting bacterial shedding in an infant mouse Influenza A co-infection model. *PLoS Pathog*. 2014 Aug 28;10(8):e1004339. doi: 10.1371/journal.ppat.1004339.
- 22) Rodrigues F, Foster D, Nicoli E, Trotter C, Vipond B, Muir P, Gonçalves G, Januário L, Finn A. Relationships between rhinitis symptoms, respiratory viral infections and

- nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* in children attending daycare. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Mar;32(3):227-32. doi: 10.1097/INF.0b013e31827687fc. Erratum in: *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Jun;32(6):707.
- 23) Matthias KA, Roche AM, Standish AJ, Shchepetov M, Weiser JN. Neutrophil-toxin interactions promote antigen delivery and mucosal clearance of *Streptococcus pneumoniae*. *J Immunol*. 2008 May 1;180(9):6246-54. doi: 10.4049/jimmunol.180.9.6246.
- 24) Zafar MA, Wang Y, Hamaguchi S, Weiser JN. Host-to-Host Transmission of *Streptococcus pneumoniae* Is Driven by Its Inflammatory Toxin, Pneumolysin. *Cell Host Microbe*. 2017 Jan 11;21(1):73-83. doi: 10.1016/j.chom.2016.12.005.
- 25) Zafar MA, Hamaguchi S, Zangari T, Cammer M, Weiser JN. Capsule Type and Amount Affect Shedding and Transmission of *Streptococcus pneumoniae*. *mBio*. 2017 Aug 22;8(4):e00989-17. doi: 10.1128/mBio.00989-17.
- 26) Pimenta FC, Ribeiro-Dias F, Brandileone MC, Miyaji EN, Leite LC, Sgambatti de Andrade AL. Genetic diversity of PspA types among nasopharyngeal isolates collected during an ongoing surveillance study of children in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2006 Aug;44(8):2838-43. doi: 10.1128/JCM.00156-06.
- 27) Hollingshead SK, Baril L, Ferro S, King J, Coan P, Briles DE, The Pneumococcal Proteins Epi Study Group. Pneumococcal surface protein A (PspA) family distribution among clinical isolates from adults over 50 years of age collected in seven countries. *J Med Microbiol*. 2006 Feb;55(Pt 2):215-221. doi: 10.1099/jmm.0.46268-0.
- 28) Marks LR, Reddinger RM, Hakansson AP. Biofilm formation enhances fomite survival of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. *Infect Immun*. 2014 Mar;82(3):1141-6. doi: 10.1128/IAI.01310-13.
- 29) Verhagen LM, de Jonge MI, Burghout P, Schraa K, Spagnuolo L, Mennens S, Eleveld MJ, van der Gaast-de Jongh CE, Zomer A, Hermans PW, Bootsma HJ. Genome-wide identification of genes essential for the survival of *Streptococcus pneumoniae* in human saliva. *PLoS One*. 2014 Feb 25;9(2):e89541. doi: 10.1371/journal.pone.0089541.
- 30) Webb P. Air temperatures in respiratory tracts of resing subjects in cold. *J Appl Physiol*. 1951 Nov;4(5):378-82. doi: 10.1152/jappl.1951.4.5.378.
- 31) Willatt DJ. Continuous infrared thermometry of the nasal mucosa. *Rhinology*. 1993 Jun;31(2):63-7.

- 32) Harell M, Mover-Lev H, Levy D, Sade J. Gas composition of the human nose and nasopharyngeal space. *Acta Otolaryngol.* 1996 Jan;116(1):82-4. doi: 10.3109/00016489609137718.
- 33) Hergils L, Magnuson B. Middle ear gas composition in pathologic conditions: mass spectrometry in otitis media with effusion and atelectasis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1997 Sep;106(9):743-5. doi: 10.1177/000348949710600905.
- 34) Yesilkaya H, Andisi VF, Andrew PW, Bijlsma JJ. Streptococcus pneumoniae and reactive oxygen species: an unusual approach to living with radicals. *Trends Microbiol.* 2013 Apr;21(4):187-95. doi: 10.1016/j.tim.2013.01.004.
- 35) Bakaletz LO. Immunopathogenesis of polymicrobial otitis media. *J Leukoc Biol.* 2010 Feb;87(2):213-22. doi: 10.1189/jlb.0709518.
- 36) Tóthpál A, Kardos S, Laub K, Nagy K, Tirczka T, van der Linden M, Dobay O. Radical serotype rearrangement of carried pneumococci in the first 3 years after intensive vaccination started in Hungary. *Eur J Pediatr.* 2015 Mar;174(3):373-81. doi: 10.1007/s00431-014-2408-1.
- 37) Shak JR, Vidal JE, Klugman KP. Influence of bacterial interactions on pneumococcal colonization of the nasopharynx. *Trends Microbiol.* 2013 Mar;21(3):129-35. doi: 10.1016/j.tim.2012.11.005.
- 38) Dagan R, Klugman KP, Craig WA, Baquero F. Evidence to support the rationale that bacterial eradication in respiratory tract infection is an important aim of antimicrobial therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2001 Feb;47(2):129-40. doi: 10.1093/jac/47.2.129.
- 39) Oggioni MR, Trappetti C, Kadioglu A, Cassone M, Iannelli F, Ricci S, Andrew PW, Pozzi G. Switch from planktonic to sessile life: a major event in pneumococcal pathogenesis. *Mol Microbiol.* 2006 Sep;61(5):1196-210. doi: 10.1111/j.1365-2958.2006.05310.x.
- 40) Gilley RP, Orihuela CJ. Pneumococci in biofilms are non-invasive: implications on nasopharyngeal colonization. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014 Nov 6;4:163. doi: 10.3389/fcimb.2014.00163.
- 41) Chao Y, Marks LR, Pettigrew MM, Hakansson AP. Streptococcus pneumoniae biofilm formation and dispersion during colonization and disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015 Jan 13;4:194. doi: 10.3389/fcimb.2014.00194.
- 42) Domenech M, García E, Moscoso M. Biofilm formation in Streptococcus pneumoniae. *Microb Biotechnol.* 2012 Jul;5(4):455-65. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00294.x.

- 43) Parker D, Soong G, Planet P, Brower J, Ratner AJ, Prince A. The NanA neuraminidase of *Streptococcus pneumoniae* is involved in biofilm formation. *Infect Immun.* 2009 Sep;77(9):3722-30. doi: 10.1128/IAI.00228-09.
- 44) Wu X, Jacobs NT, Bozio C, Palm P, Lattar SM, Hanke CR, Watson DM, Sakai F, Levin BR, Klugman KP, Vidal JE. Competitive Dominance within Biofilm Consortia Regulates the Relative Distribution of Pneumococcal Nasopharyngeal Density. *Appl Environ Microbiol.* 2017 Aug 1;83(16):e00953-17. doi: 10.1128/AEM.00953-17.
- 45) Waite RD, Penfold DW, Struthers JK, Dowson CG. Spontaneous sequence duplications within capsule genes cap8E and tts control phase variation in *Streptococcus pneumoniae* serotypes 8 and 37. *Microbiology (Reading).* 2003 Feb;149(Pt 2):497-504. doi: 10.1099/mic.0.26011-0.
- 46) Sanchez CJ, Hurtgen BJ, Lizcano A, Shivshankar P, Cole GT, Orihuela CJ. Biofilm and planktonic pneumococci demonstrate disparate immunoreactivity to human convalescent sera. *BMC Microbiol.* 2011 Nov 2;11:245. doi: 10.1186/1471-2180-11-245.
- 47) Trappetti C, Potter AJ, Paton AW, Oggioni MR, Paton JC. LuxS mediates iron-dependent biofilm formation, competence, and fratricide in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun.* 2011 Nov;79(11):4550-8. doi: 10.1128/IAI.05644-11.
- 48) Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Jun;129(6):634-6. doi: 10.1001/archotol.129.6.634.
- 49) Marks LR, Parameswaran GI, Hakansson AP. Pneumococcal interactions with epithelial cells are crucial for optimal biofilm formation and colonization in vitro and in vivo. *Infect Immun.* 2012 Aug;80(8):2744-60. doi: 10.1128/IAI.00488-12.
- 50) Chen JD, Morrison DA. Modulation of competence for genetic transformation in *Streptococcus pneumoniae*. *J Gen Microbiol.* 1987 Jul;133(7):1959-67. doi: 10.1099/00221287-133-7-1959.
- 51) Rodrigues F, Danon L, Morales-Aza B, Sikora P, Thors V, Ferreira M, Gould K, Hinds J, Finn A. Pneumococcal Serotypes Colonise the Nasopharynx in Children at Different Densities. *PLoS One.* 2016 Sep 29;11(9):e0163435. doi: 10.1371/journal.pone.0163435.
- 52) Cundell DR, Weiser JN, Shen J, Young A, Tuomanen EI. Relationship between colonial morphology and adherence of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun.* 1995 Mar;63(3):757-61. doi: 10.1128/iai.63.3.757-761.1995.
- 53) Lizcano A, Chin T, Sauer K, Tuomanen EI, Orihuela CJ. Early biofilm formation on microtiter plates is not correlated with the invasive disease potential of *Streptococcus*

- pneumoniae. *Microb Pathog.* 2010 Mar-Apr;48(3-4):124-30. doi: 10.1016/j.micpath.2010.01.002.
- 54) Steinmoen H, Knutsen E, Håvarstein LS. Induction of natural competence in *Streptococcus pneumoniae* triggers lysis and DNA release from a subfraction of the cell population. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 May 28;99(11):7681-6. doi: 10.1073/pnas.112464599.
- 55) Chonmaitree T, Ruohola A, Hendley JO. Presence of viral nucleic acids in the middle ear: acute otitis media pathogen or bystander? *Pediatr Infect Dis J.* 2012 Apr;31(4):325-30. doi: 10.1097/INF.0b013e318241afe4.
- 56) Henderson FW, Collier AM, Sanyal MA, Watkins JM, Fairclough DL, Clyde WA Jr, Denny FW. A longitudinal study of respiratory viruses and bacteria in the etiology of acute otitis media with effusion. *N Engl J Med.* 1982 Jun 10;306(23):1377-83. doi: 10.1056/NEJM198206103062301.
- 57) Simell B, Auranen K, Käyhty H, Goldblatt D, Dagan R, O'Brien KL; Pneumococcal Carriage Group. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Expert Rev Vaccines.* 2012 Jul;11(7):841-55. doi: 10.1586/erv.12.53.
- 58) Pimenta FC, Roundtree A, Soysal A, Bakir M, du Plessis M, Wolter N, von Gottberg A, McGee L, Carvalho Mda G, Beall B. Sequential triplex real-time PCR assay for detecting 21 pneumococcal capsular serotypes that account for a high global disease burden. *J Clin Microbiol.* 2013 Feb;51(2):647-52. doi: 10.1128/JCM.02927-12.
- 59) Orihuela CJ, Gao G, McGee M, Yu J, Francis KP, Tuomanen E. Organ-specific models of *Streptococcus pneumoniae* disease. *Scand J Infect Dis.* 2003;35(9):647-52. doi: 10.1080/00365540310015854.
- 60) Sanchez CJ, Shivshankar P, Stol K, Trakhtenbroit S, Sullam PM, Sauer K, Hermans PW, Orihuela CJ. The pneumococcal serine-rich repeat protein is an intra-species bacterial adhesin that promotes bacterial aggregation in vivo and in biofilms. *PLoS Pathog.* 2010 Aug 12;6(8):e1001044. doi: 10.1371/journal.ppat.1001044.
- 61) Gharailoo Z, Mousavi SF, Halvani N, Feizabadi MM. Antimicrobial Resistant Pattern and Capsular Typing of *Streptococcus Pneumoniae* Isolated from Children in Sistan - Baluchestan. *Maedica (Bucur).* 2016 Sep;11(3):203-207.
- 62) Santos G, Lai X, Eberhardt M, Vera J. Bacterial Adherence and Dwelling Probability: Two Drivers of Early Alveolar Infection by *Streptococcus pneumoniae* Identified in Multi-Level Mathematical Modeling. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018 May 15;8:159. doi: 10.3389/fcimb.2018.00159.

- 63) Dagan R, Jiang Q, Juergens C, Trammel J, Gruber WC, Scott DA. Carrier-Induced Hyporesponsiveness to Pneumococcal Conjugate Vaccines: Unraveling the Influence of Serotypes, Timing, and Previous Vaccine Dose. *Clin Infect Dis*. 2021 Feb 1;72(3):448-454. doi: 10.1093/cid/ciaa083.
- 64) Dagan R. Relationship between immune response to pneumococcal conjugate vaccines in infants and indirect protection after vaccine implementation. *Expert Rev Vaccines*. 2019 Jun;18(6):641-661. doi: 10.1080/14760584.2019.1627207.
- 65) Wagner BG, Althouse BM, Givon-Lavi N, Hu H, Dagan R. Stable dynamics of pneumococcal carriage over a decade in the pre-PCV era. *Vaccine*. 2019 Sep 3;37(37):5625-5629. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.07.077.
- 66) Devine VT, Cleary DW, Jefferies JM, Anderson R, Morris DE, Tuck AC, Gladstone RA, O'Doherty G, Kuruparan P, Bentley SD, Faust SN, Clarke SC. The rise and fall of pneumococcal serotypes carried in the PCV era. *Vaccine*. 2017 Mar 1;35(9):1293-1298. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.01.035.
- 67) Nackers F, Cohuet S, le Polain de Waroux O, Langendorf C, Nyehangane D, Ndazima D, Nanjebe D, Karani A, Tumwesigye E, Mwanga-Amumpaire J, Scott JAG, Grais RF. Carriage prevalence and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* prior to 10-valent pneumococcal vaccine introduction: A population-based cross-sectional study in South Western Uganda, 2014. *Vaccine*. 2017 Sep 18;35(39):5271-5277. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.07.081.
- 68) Falup-Pecurariu O, Bleotu L, Zavarache C, Peled N, Anton O, Robu M, Falup-Pecurariu C, Rogozea L, Porat N, Greenberg D, Dagan R, Leibovitz E. *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal colonization in children in Brasov, Central Romania: high antibiotic resistance and coverage by conjugate vaccines. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Jan;30(1):76-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181f42bb6.
- 69) Leibovitz E, Dragomir C, Sfartz S, Porat N, Yagupsky P, Jica S, Florescu L, Dagan R. Nasopharyngeal carriage of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in institutionalized HIV-infected and HIV-negative children in northeastern Romania. *Int J Infect Dis*. 1999 Summer;3(4):211-5. doi: 10.1016/s1201-9712(99)90027-9.
- 70) Blanchette KA, Orihuela CJ. Future perspective on host-pathogen interactions during bacterial biofilm formation within the nasopharynx. *Future Microbiol*. 2012 Feb;7(2):227-39. doi: 10.2217/fmb.11.160.
- 71) Hector A, Kirn T, Ralhan A, Graepler-Mainka U, Berenbrinker S, Riethmueller J, Hogardt M, Wagner M, Pflieger A, Autenrieth I, Kappler M, Griese M, Eber E, Martus P,

- Hartl D. Microbial colonization and lung function in adolescents with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2016 May;15(3):340-9. doi: 10.1016/j.jcf.2016.01.004.
- 72) Subramanian K, Henriques-Normark B, Normark S. Emerging concepts in the pathogenesis of the *Streptococcus pneumoniae*: From nasopharyngeal colonizer to intracellular pathogen. *Cell Microbiol*. 2019 Nov;21(11):e13077. doi: 10.1111/cmi.13077.
- 73) Neal EFG, Nguyen C, Ratu FT, Matanitobua S, Dunne EM, Reyburn R, Kama M, Devi R, Jenkins KM, Tikoduadua L, Kado J, Rafai E, Satzke C, Mulholland EK, Russell FM. A Comparison of Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage in Very Young Fijian Infants Born by Vaginal or Cesarean Delivery. *JAMA Netw Open*. 2019 Oct 2;2(10):e1913650. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.13650.
- 74) Brandileone MC, Zanella RC, Almeida SCG, Brandao AP, Ribeiro AF, Carvalhanas TMP, Sato H, Andrade AL, Verani JR; Pneumococcal Carriage Study Group. Effect of 10-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* among children in São Paulo, Brazil. *Vaccine*. 2016 Nov 4;34(46):5604-5611. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.09.027.
- 75) Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJ, Bogaert D. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Dec 1;190(11):1283-92. doi: 10.1164/rccm.201407-1240OC.
- 76) Bosch AATM, van Houten MA, Bruin JP, Wijmenga-Monsuur AJ, Trzciński K, Bogaert D, Rots NY, Sanders EAM. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* and other bacteria in the 7th year after implementation of the pneumococcal conjugate vaccine in the Netherlands. *Vaccine*. 2016 Jan 20;34(4):531-539. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.11.060.
- 77) Hathaway LJ, Bättig P, Reber S, Rotzetter JU, Aebi S, Hauser C, Heller M, Kadioglu A, Mühlemann K. *Streptococcus pneumoniae* detects and responds to foreign bacterial peptide fragments in its environment. *Open Biol*. 2014 Apr 9;4(4):130224. doi: 10.1098/rsob.130224.
- 78) Allemann A, Frey PM, Brugger SD, Hilty M. Pneumococcal carriage and serotype variation before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccines in patients with acute otitis media in Switzerland. *Vaccine*. 2017 Apr 4;35(15):1946-1953. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.02.010.
- 79) Rokney A, Ben-Shimol S, Korenman Z, Porat N, Gorodnitzky Z, Givon-Lavi N, Ron M, Agmon V, Dagan R, Valinsky L. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 12F

- after Sequential Introduction of 7- and 13-Valent Vaccines, Israel. *Emerg Infect Dis.* 2018 Mar;24(3):453-461. doi: 10.3201/eid2403.170769.
- 80) Biesbroek G, Wang X, Keijser BJ, Eijkemans RM, Trzciński K, Rots NY, Veenhoven RH, Sanders EA, Bogaert D. Seven-valent pneumococcal conjugate vaccine and nasopharyngeal microbiota in healthy children. *Emerg Infect Dis.* 2014 Feb;20(2):201-10. doi: 10.3201/eid2002.131220.
- 81) Dagan R, Ben-Shimol S, Simell B, Greenberg D, Porat N, Käyhty H, Givon-Lavi N. A toddler PCV booster dose following 3 infancy priming doses increases circulating serotype-specific IGG levels but does not increase protection against carriage. *Vaccine.* 2018 May 11;36(20):2774-2782. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.04.007.
- 82) Feazel LM, Santorico SA, Robertson CE, Bashraheil M, Scott JA, Frank DN, Hammitt LL. Effects of Vaccination with 10-Valent Pneumococcal Non-Typeable Haemophilus influenza Protein D Conjugate Vaccine (PHiD-CV) on the Nasopharyngeal Microbiome of Kenyan Toddlers. *PLoS One.* 2015 Jun 17;10(6):e0128064. doi: 10.1371/journal.pone.0128064.
- 83) Wouters I, Van Heirstraeten L, Desmet S, Blaizot S, Verhaegen J, Goossens H, Van Damme P, Malhotra-Kumar S, Theeten H; NPcarriage Study Group. Nasopharyngeal *S. pneumoniae* carriage and density in Belgian infants after 9 years of pneumococcal conjugate vaccine programme. *Vaccine.* 2018 Jan 2;36(1):15-22. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.11.052.
- 84) Wouters I, Desmet S, Van Heirstraeten L, Herzog SA, Beutels P, Verhaegen J, Goossens H, Van Damme P, Malhotra-Kumar S, Theeten H; NPcarriage Study Group. How nasopharyngeal pneumococcal carriage evolved during and after a PCV13-to-PCV10 vaccination programme switch in Belgium, 2016 to 2018. *Euro Surveill.* 2020 Feb;25(5):1900303. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.1900303.
- 85) Naucler P, Galanis I, Morfeldt E, Darenberg J, Örtqvist Å, Henriques-Normark B. Comparison of the Impact of Pneumococcal Conjugate Vaccine 10 or Pneumococcal Conjugate Vaccine 13 on Invasive Pneumococcal Disease in Equivalent Populations. *Clin Infect Dis.* 2017 Nov 13;65(11):1780-1789. doi: 10.1093/cid/cix685. Erratum in: *Clin Infect Dis.* 2019 Jan 18;68(3):534.
- 86) Finnish Institute for Health and Welfare. Incidence of invasive pneumococcal disease in Finland. Helsinki. THL.2017 <https://thl.fi/en/web/thlfi-en/research-and-development/research-and-projects/monitoring-the-population-effectiveness-of-pneumococcal-conjugate-vaccination-in-the-finnish-national-vaccination-programme/incidence-of-invasive-pneumococcal-disease-in-finland>

- 87) Kaya Gursoy B, Beyazova U, Oguz MM, Demirel F, Ozkan S, Sultan N, Nar Otgun S. Impact of PCV7 vaccination on nasopharyngeal carriage and antimicrobial resistance among children in Turkey. *J Infect Dev Ctries*. 2019 Mar 31;13(3):227-232. doi: 10.3855/jidc.10833.
- 88) Papadatou I, Spoulou V. Pneumococcal Vaccination in High-Risk Individuals: Are We Doing It Right? *Clin Vaccine Immunol*. 2016 May 6;23(5):388-395. doi: 10.1128/CVI.00721-15.
- 89) Dagan R, Givon-Lavi N, Greenberg D, Fritzell B, Siegrist CA. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* shortly before vaccination with a pneumococcal conjugate vaccine causes serotype-specific hyporesponsiveness in early infancy. *J Infect Dis*. 2010 May 15;201(10):1570-9. doi: 10.1086/652006.
- 90) Klugman, Keith & Black, Steven & Dagan, Ron & Malley, Richard & Whitney, Cynthia. (2012). Pneumococcal conjugate vaccine and pneumococcal common protein vaccines. *Vaccines: Sixth Edition*. 504-541. 10.1016/B978-1-4557-0090-5.00032-X.
- 91) Madhi SA, Violari A, Klugman KP, Lin G, McIntyre JA, von Gottberg A, Jean-Philippe P, Cotton MF, Adrian P; CIPRA 4 team. Inferior quantitative and qualitative immune responses to pneumococcal conjugate vaccine in infants with nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae* during the primary series of immunization. *Vaccine*. 2011 Sep 16;29(40):6994-7001. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.07.035.
- 92) Løvlie A, Vestrheim DF, Aaberge IS, Steens A. Changes in pneumococcal carriage prevalence and factors associated with carriage in Norwegian children, four years after introduction of PCV13. *BMC Infect Dis*. 2020 Jan 10;20(1):29. doi: 10.1186/s12879-019-4754-0.
- 93) Millar EV, Pimenta FC, Roundtree A, Jackson D, Carvalho Mda G, Perilla MJ, Reid R, Santosham M, Whitney CG, Beall BW, O'Brien KL. Pre- and post-conjugate vaccine epidemiology of pneumococcal serotype 6C invasive disease and carriage within Navajo and White Mountain Apache communities. *Clin Infect Dis*. 2010 Dec 1;51(11):1258-65. doi: 10.1086/657070.
- 94) Falup-Pecurariu O. Lessons learnt after the introduction of the seven valent-pneumococcal conjugate vaccine toward broader spectrum conjugate vaccines. *Biomed J*. 2012 Nov-Dec;35(6):450-6. doi: 10.4103/2319-4170.104409.
- 95) Dagan R, Givon-Lavi N, Zamir O, Sikuler-Cohen M, Guy L, Janco J, Yagupsky P, Fraser D. Reduction of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* after administration of a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine to toddlers attending day care centers. *J Infect Dis*. 2002 Apr 1;185(7):927-36. doi: 10.1086/339525.

- 96) Greenberg D, Givon-Lavi N, Newman N, Bar-Ziv J, Dagan R. Nasopharyngeal carriage of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes during pediatric pneumonia as a means to estimate serotype disease potential. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Mar;30(3):227-33. doi: 10.1097/INF.0b013e3181f87802.
- 97) Vestrheim DF, Høiby EA, Aaberge IS, Caugant DA. Impact of a pneumococcal conjugate vaccination program on carriage among children in Norway. *Clin Vaccine Immunol*. 2010 Mar;17(3):325-34. doi: 10.1128/CVI.00435-09.
- 98) Vergison A, Dagan R, Arguedas A, Bonhoeffer J, Cohen R, Dhooze I, Hoberman A, Liese J, Marchisio P, Palmu AA, Ray GT, Sanders EA, Simões EA, Uhari M, van Eldere J, Pelton SI. Otitis media and its consequences: beyond the earache. *Lancet Infect Dis*. 2010 Mar;10(3):195-203. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70012-8.
- 99) Acuin J. Chronic suppurative otitis media. *BMJ Clin Evid*. 2007 Feb 1;2007:0507.
- 100) Pichichero ME. Otitis media. *Pediatr Clin North Am*. 2013 Apr;60(2):391-407. doi: 10.1016/j.pcl.2012.12.007.
- 101) Bluestone CD. Pathogenesis of otitis media: role of eustachian tube. *Pediatr Infect Dis J*. 1996 Apr;15(4):281-91. doi: 10.1097/00006454-199604000-00002.
- 102) Casselbrant ML, Mandel EM, Fall PA, Rockette HE, Kurs-Lasky M, Bluestone CD, Ferrell RE. The heritability of otitis media: a twin and triplet study. *JAMA*. 1999 Dec 8;282(22):2125-30. doi: 10.1001/jama.282.22.2125.
- 103) Pichichero ME. Immunologic dysfunction contributes to the otitis prone condition. *J Infect*. 2020 Jun;80(6):614-622. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.017
- 104) Pichichero ME. Ten-Year Study of the Stringently Defined Otitis-prone Child in Rochester, NY. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 Sep;35(9):1033-9. doi: 10.1097/INF.0000000000001217.
- 105) Lixandru RI, Falup-Pecurariu C, Bleotu L, Mercas A, Leibovitz E, Dagan R, Greenberg D, Falup-Pecurariu O. *Streptococcus pneumoniae* Serotypes and Antibiotic Susceptibility Patterns in Middle Ear Fluid Isolates During Acute Otitis Media and Nasopharyngeal Isolates During Community-acquired Alveolar Pneumonia in Central Romania. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Feb;36(2):151-154. doi: 10.1097/INF.0000000000001379.
- 106) Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Mercas A, Bleotu L, Zavarache C, Porat N, Dagan R, Greenberg D. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. *Int J Infect Dis*. 2013 Sep;17(9):e702-6. doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.002.

- 107) Verhoeven D, Pichichero ME. Divergent mucosal and systemic responses in children in response to acute otitis media. *Clin Exp Immunol*. 2014 Oct;178(1):94-101. doi: 10.1111/cei.12389.
- 108) Kaur R, Casey JR, Pichichero ME. Serum antibody response to three non-typeable *Haemophilus influenzae* outer membrane proteins during acute otitis media and nasopharyngeal colonization in otitis prone and non-otitis prone children. *Vaccine*. 2011 Jan 29;29(5):1023-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.11.055.
- 109) Pichichero ME, Casey JR, Almudevar A. Nonprotective responses to pediatric vaccines occur in children who are otitis prone. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Nov;32(11):1163-8. doi: 10.1097/INF.0b013e31829e887e. Erratum in: *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Jan;33(1):80.
- 110) Basha S, Pichichero ME. Poor memory B cell generation contributes to non-protective responses to DTaP vaccine antigens in otitis-prone children. *Clin Exp Immunol*. 2015 Dec;182(3):314-22. doi: 10.1111/cei.12660.
- 111) Zhang Z, Clarke TB, Weiser JN. Cellular effectors mediating Th17-dependent clearance of pneumococcal colonization in mice. *J Clin Invest*. 2009 Jul;119(7):1899-909. doi: 10.1172/JCI36731.
- 112) Basha S, Kaur R, Mosmann TR, Pichichero ME. Reduced T-Helper 17 Responses to *Streptococcus pneumoniae* in Infection-Prone Children Can Be Rescued by Addition of Innate Cytokines. *J Infect Dis*. 2017 Apr 15;215(8):1321-1330. doi: 10.1093/infdis/jix090.
- 113) Pichichero ME, Casey JR, Almudevar A, Basha S, Surendran N, Kaur R, Morris M, Livingstone AM, Mosmann TR. Functional Immune Cell Differences Associated With Low Vaccine Responses in Infants. *J Infect Dis*. 2016 Jun 15;213(12):2014-9. doi: 10.1093/infdis/jiw053.
- 114) Ren D, Xu Q, Almudevar AL, Pichichero ME. Impaired Proinflammatory Response in Stringently Defined Otitis-prone Children During Viral Upper Respiratory Infections. *Clin Infect Dis*. 2019 Apr 24;68(9):1566-1574. doi: 10.1093/cid/ciy750.
- 115) Siddiq S, Grainger J. The diagnosis and management of acute otitis media: American Academy of Pediatrics Guidelines 2013. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2015 Aug;100(4):193-7. doi: 10.1136/archdischild-2013-305550.
- 116) Kaur R, Morris M, Pichichero ME. Epidemiology of Acute Otitis Media in the Postpneumococcal Conjugate Vaccine Era. *Pediatrics*. 2017 Sep;140(3):e20170181. doi: 10.1542/peds.2017-0181. Erratum in: *Pediatrics*. 2018 Feb 28.

- 117) Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Mercas A, Bleotu L, Zavarache C, Porat N, Dagan R, Greenberg D. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. *Int J Infect Dis.* 2013 Sep;17(9):e702-6. doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.002.
- 118) Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study. *J Infect Dis.* 1989 Jul;160(1):83-94. doi: 10.1093/infdis/160.1.83.
- 119) Esposito S, Marchisio P, Orenti A, Spena S, Bianchini S, Nazzari E, Rosazza C, Zampiero A, Biganzoli E, Principi N. Genetic Polymorphisms of Functional Candidate Genes and Recurrent Acute Otitis Media With or Without Tympanic Membrane Perforation. *Medicine (Baltimore).* 2015 Oct;94(42):e1860. doi: 10.1097/MD.0000000000001860.
- 120) Vernacchio L, Lesko SM, Vezina RM, Corwin MJ, Hunt CE, Hoffman HJ, Mitchell AA. Racial/ethnic disparities in the diagnosis of otitis media in infancy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004 Jun;68(6):795-804. doi: 10.1016/j.ijporl.2004.01.012.
- 121) Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M; ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet.* 2005 Feb 12-18;365(9459):579-87. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17907-0.
- 122) Mendelson M, Matsoso MP. The World Health Organization Global Action Plan for antimicrobial resistance. *S Afr Med J.* 2015 Apr 6;105(5):325. doi: 10.7196/samj.9644.
- 123) Ngo CC, Massa HM, Thornton RB, Cripps AW. Predominant Bacteria Detected from the Middle Ear Fluid of Children Experiencing Otitis Media: A Systematic Review. *PLoS One.* 2016 Mar 8;11(3):e0150949. doi: 10.1371/journal.pone.0150949.
- 124) Mather MW, Drinnan M, Perry JD, Powell S, Wilson JA, Powell J. A systematic review and meta-analysis of antimicrobial resistance in paediatric acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2019 Aug;123:102-109. doi: 10.1016/j.ijporl.2019.04.041.
- 125) Dagan R, Abramson O, Leibovitz E, Lang R, Goshen S, Greenberg D, Yagupsky P, Leiberman A, Fliss DM. Impaired bacteriologic response to oral cephalosporins in acute otitis media caused by pneumococci with intermediate resistance to penicillin. *Pediatr Infect Dis J.* 1996 Nov;15(11):980-5. doi: 10.1097/00006454-199611000-00010.
- 126) Dohar J. Microbiology of otorrhea in children with tympanostomy tubes: implications for therapy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2003 Dec;67(12):1317-23. doi: 10.1016/j.ijporl.2003.08.043.

- 127) Rosenfeld RM, Kay D. Natural history of untreated otitis media. *Laryngoscope*. 2003 Oct;113(10):1645-57. doi: 10.1097/00005537-200310000-00004.
- 128) Thompson PL, Gilbert RE, Long PF, Saxena S, Sharland M, Wong IC. Effect of antibiotics for otitis media on mastoiditis in children: a retrospective cohort study using the United Kingdom general practice research database. *Pediatrics*. 2009 Feb;123(2):424-30. doi: 10.1542/peds.2007-3349.
- 129) Greenberg D, Givon-Lavi N, Ben-Shimol S, Ziv JB, Dagan R. Impact of PCV7/PCV13 introduction on community-acquired alveolar pneumonia in children <5 years. *Vaccine*. 2015 Aug 26;33(36):4623-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.062.
- 130) Dagan R, Pelton S, Bakaletz L, Cohen R. Prevention of early episodes of otitis media by pneumococcal vaccines might reduce progression to complex disease. *Lancet Infect Dis*. 2016 Apr;16(4):480-92. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00549-6.
- 131) Ubukata K, Morozumi M, Sakuma M, Takata M, Mokuno E, Tajima T, Iwata S; AOM Surveillance Study Group. Etiology of Acute Otitis Media and Characterization of Pneumococcal Isolates After Introduction of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Japanese Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2018 Jun;37(6):598-604. doi: 10.1097/INF.0000000000001956.
- 132) Kaur R, Pham M, Yu KOA, Pichichero ME. Rising Pneumococcal Antibiotic Resistance in the Post-13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Era in Pediatric Isolates From a Primary Care Setting. *Clin Infect Dis*. 2021 Mar 1;72(5):797-805. doi: 10.1093/cid/ciaa157.
- 133) Flyman S, Hermansson A, Gisselsson-Solén M. Nasopharyngeal cultures in children; when, what and why? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2020 Mar;130:109832. doi: 10.1016/j.ijporl.2019.109832.
- 134) Grevers G; First International Roundtable ENT Meeting Group. Challenges in reducing the burden of otitis media disease: an ENT perspective on improving management and prospects for prevention. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2010 Jun;74(6):572-7. doi: 10.1016/j.ijporl.2010.03.049.
- 135) Faden H, Duffy L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D, Tung Y. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *Tonawanda/Williamsville Pediatrics. J Infect Dis*. 1997 Jun;175(6):1440-5. doi: 10.1086/516477.
- 136) Chonmaitree T, Jennings K, Golovko G, Khanipov K, Pimenova M, Patel JA, McCormick DP, Loeffelholz MJ, Fofanov Y. Nasopharyngeal microbiota in infants and

- changes during viral upper respiratory tract infection and acute otitis media. *PLoS One*. 2017 Jul 14;12(7):e0180630. doi: 10.1371/journal.pone.0180630.
- 137) Lewnard JA, Givon-Lavi N, Dagan R. Interaction With Nontypeable *Haemophilus influenzae* Alters Progression of *Streptococcus pneumoniae* From Colonization to Disease in a Site-Specific Manner. *J Infect Dis*. 2019 Sep 13;220(8):1367-1376. doi: 10.1093/infdis/jiz312.
- 138) Lewnard JA, Huppert A, Givon-Lavi N, Pettigrew MM, Regev-Yochay G, Dagan R, Weinberger DM. Density, Serotype Diversity, and Fitness of *Streptococcus pneumoniae* in Upper Respiratory Tract Cocolonization With Nontypeable *Haemophilus influenzae*. *J Infect Dis*. 2016 Nov 1;214(9):1411-1420. doi: 10.1093/infdis/jiw381.
- 139) Dagan R, Leibovitz E, Greenberg D, Bakaletz L, Givon-Lavi N. Mixed pneumococcal-nontypeable *Haemophilus influenzae* otitis media is a distinct clinical entity with unique epidemiologic characteristics and pneumococcal serotype distribution. *J Infect Dis*. 2013 Oct 1;208(7):1152-60. doi: 10.1093/infdis/jit289.
- 140) Cope EK, Goldstein-Daruech N, Kofonow JM, Christensen L, McDermott B, Monroy F, Palmer JN, Chiu AG, Shirliff ME, Cohen NA, Leid JG. Regulation of virulence gene expression resulting from *Streptococcus pneumoniae* and nontypeable *Haemophilus influenzae* interactions in chronic disease. *PLoS One*. 2011;6(12):e28523. doi: 10.1371/journal.pone.0028523.
- 141) Hanage WP, Kaijalainen T, Saukkoriipi A, Rickcord JL, Spratt BG. A successful, diverse disease-associated lineage of nontypeable pneumococci that has lost the capsular biosynthesis locus. *J Clin Microbiol*. 2006;44(3):743-749. doi:10.1128/JCM.44.3.743-749.2006
- 142) Buznach N, Dagan R, Greenberg D. Clinical and bacterial characteristics of acute bacterial conjunctivitis in children in the antibiotic resistance era. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Sep;24(9):823-8. doi: 10.1097/01.inf.0000178066.24569.98.
- 143) Bodor FF. Conjunctivitis-otitis syndrome. *Pediatrics*. 1982 Jun;69(6):695-8.
- 144) Fortanier AC, Venekamp RP, Boonacker CW, Hak E, Schilder AG, Sanders EA, Damoiseaux RA. Pneumococcal conjugate vaccines for preventing acute otitis media in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 May 28;5(5):CD001480. doi: 10.1002/14651858.CD001480.pub5. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Nov 24;11:CD001480.
- 145) Webster LT, Clow AD. The association of pneumococci, hemophilus influenzae, and streptococcus hemolyticus with coryza, pharyngitis, and sinusitis in man. *J Exp Med*. 1932 Feb 29;55(3):445-53. doi: 10.1084/jem.55.3.445.

- 146) Karppinen S, Teräsjärvi J, Auranen K, Schuez-Havupalo L, Siira L, He Q, Waris M, Peltola V. Acquisition and Transmission of *Streptococcus pneumoniae* Are Facilitated during Rhinovirus Infection in Families with Children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017 Nov 1;196(9):1172-1180. doi: 10.1164/rccm.201702-0357OC.
- 147) Gwaltney JM Jr, Sande MA, Austrian R, Hendley JO. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. II. Relation of transfer of *S. pneumoniae* to incidence of colds and serum antibody. *J Infect Dis*. 1975 Jul;132(1):62-8. doi: 10.1093/infdis/132.1.62.
- 148) Sigurdsson S, Kristinsson KG, Erlendsdóttir H, Hrafnkelsson B, Haraldsson Á. Decreased Incidence of Respiratory Infections in Children After Vaccination with Ten-valent Pneumococcal Vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Dec;34(12):1385-90. doi: 10.1097/INF.0000000000000899.
- 149) Karppinen S, Toivonen L, Schuez-Havupalo L, Teros-Jaakkola T, Waris M, Auranen K, Palmu AA, Peltola V. Effectiveness of the ten-valent pneumococcal *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV10) against all respiratory tract infections in children under two years of age. *Vaccine*. 2019 May 16;37(22):2935-2941. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.04.026.
- 150) Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, Takala A, Käyhty H, Karma P, Kohberger R, Siber G, Mäkelä PH; Finnish Otitis Media Study Group. Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med*. 2001 Feb 8;344(6):403-9. doi: 10.1056/NEJM200102083440602.
- 151) Nguyen DT, de Witte L, Ludlow M, Yüksel S, Wiesmüller KH, Geijtenbeek TB, Osterhaus AD, de Swart RL. The synthetic bacterial lipopeptide Pam3CSK4 modulates respiratory syncytial virus infection independent of TLR activation. *PLoS Pathog*. 2010 Aug 19;6(8):e1001049. doi: 10.1371/journal.ppat.1001049.
- 152) Jartti T, Kuneinen S, Lehtinen P, Peltola V, Vuorinen T, Leinonen M, Ruuskanen O. Nasopharyngeal bacterial colonization during the first wheezing episode is associated with longer duration of hospitalization and higher risk of relapse in young children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Feb;30(2):233-41. doi: 10.1007/s10096-010-1075-z.
- 153) Cebey-López M, Herberg J, Pardo-Seco J, Gómez-Carballa A, Martín-Torres N, Salas A, Martín-Sánchez JM, Justicia A, Rivero-Calle I, Sumner E, Fink C, Martín-Torres F; GENDRES network. Does Viral Co-Infection Influence the Severity of Acute Respiratory Infection in Children? *PLoS One*. 2016 Apr 20;11(4):e0152481. doi: 10.1371/journal.pone.0152481.
- 154) Smith CM, Sandrini S, Datta S, Freestone P, Shafeeq S, Radhakrishnan P, Williams G, Glenn SM, Kuipers OP, Hirst RA, Easton AJ, Andrew PW, O'Callaghan C. Respiratory

- syncytial virus increases the virulence of *Streptococcus pneumoniae* by binding to penicillin binding protein 1a. A new paradigm in respiratory infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Jul 15;190(2):196-207. doi: 10.1164/rccm.201311-2110OC.
- 155) Wouters I, Desmet S, Van Heirstraeten L, Blaizot S, Verhaegen J, Van Damme P, Malhotra-Kumar S, Theeten H; NPcarriage Study Group. Follow-up of serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in child carriage after a PCV13-to-PCV10 vaccine switch in Belgium. *Vaccine*. 2019 Feb 14;37(8):1080-1086. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.12.068.
- 156) Verhaegen J et al. Pneumococcal serotype evaluation/replacement after 4 years the introduction of 13 valent pneumococcal conjugate vaccine into the vaccination program in Belgium. ISPPD. Glasgow.2016
- 157) Liese JG, Silfverdal SA, Giaquinto C, Carmona A, Larcombe JH, Garcia-Sicilia J, Fuat A, Garces-Sanchez M, Basanta ML, Hiraldo EM, Cantarutti L, Kroeniger W, Vollmar J, Holl K, Pirçon JY, Rosenlund MR. Incidence and clinical presentation of acute otitis media in children aged <6 years in European medical practices. *Epidemiol Infect*. 2014 Aug;142(8):1778-88. doi: 10.1017/S0950268813002744.
- 158) Levy C, Varon E, Ouldali N, Wollner A, Thollot F, Corrad F, Werner A, Béchet S, Bonacorsi S, Cohen R. Bacterial causes of otitis media with spontaneous perforation of the tympanic membrane in the era of 13 valent pneumococcal conjugate vaccine. *PLoS One*. 2019 Feb 1;14(2):e0211712. doi: 10.1371/journal.pone.0211712.
- 159) Marchisio P, Esposito S, Picca M, Baggi E, Terranova L, Orenti A, Biganzoli E, Principi N; Milan AOM Study Group. Serotypes not Included in 13-Valent Pneumococcal Vaccine as Causes of Acute Otitis Media with Spontaneous Tympanic Membrane Perforation in a Geographic Area with High Vaccination Coverage. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 May;36(5):521-523. doi: 10.1097/INF.0000000000001485.
- 160) van Dongen TM, Venekamp RP, Wensing AM, Bogaert D, Sanders EA, Schilder AG. Acute otorrhea in children with tympanostomy tubes: prevalence of bacteria and viruses in the post-pneumococcal conjugate vaccine era. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Apr;34(4):355-60. doi: 10.1097/INF.0000000000000595.
- 161) Man WH, van Dongen TMA, Venekamp RP, Pluimakers VG, Chu MLJN, van Houten MA, Sanders EAM, Schilder AGM, Bogaert D. Respiratory Microbiota Predicts Clinical Disease Course of Acute Otorrhea in Children With Tympanostomy Tubes. *Pediatr Infect Dis J*. 2019 Jun;38(6):e116-e125. doi: 10.1097/INF.0000000000002215.
- 162) Jarvis-Bardy J, Rogers GB, Morris PS, Smith-Vaughan HC, Nosworthy E, Leong LE, Smith RJ, Weyrich LS, De Haan J, Carney AS, Leach AJ, O'Leary S, Marsh RL. The

- microbiome of otitis media with effusion in Indigenous Australian children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015 Sep;79(9):1548-55. doi: 10.1016/j.ijporl.2015.07.013.
- 163) Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJ, Bogaert D. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Dec 1;190(11):1283-92. doi: 10.1164/rccm.201407-1240OC.
- 164) Man WH, de Steenhuijsen Pitsers WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017 May;15(5):259-270. doi: 10.1038/nrmicro.2017.14.
- 165) Tunney MM, Field TR, Moriarty TF, Patrick S, Doering G, Muhlebach MS, Wolfgang MC, Boucher R, Gilpin DF, McDowell A, Elborn JS. Detection of anaerobic bacteria in high numbers in sputum from patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 May 1;177(9):995-1001. doi: 10.1164/rccm.200708-1151OC.
- 166) van Dongen TM, van der Heijden GJ, van Zon A, et al. Evaluation of concordance between the microorganisms detected in the nasopharynx and middle ear of children with otitis media. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2013 May;32(5):549-552. DOI: 10.1097/inf.0b013e318280ab45.
- 167) Lappan R, Imbrogno K, Sikazwe C, Anderson D, Mok D, Coates H, Vijayasekaran S, Bumbak P, Blyth CC, Jamieson SE, Peacock CS. A microbiome case-control study of recurrent acute otitis media identified potentially protective bacterial genera. *BMC Microbiol*. 2018 Feb 20;18(1):13. doi: 10.1186/s12866-018-1154-3.
- 168) Hilty M, Qi W, Brugger SD, Frei L, Agyeman P, Frey PM, Aebi S, Mühlemann K. Nasopharyngeal microbiota in infants with acute otitis media. *J Infect Dis*. 2012 Apr 1;205(7):1048-55. doi: 10.1093/infdis/jis024.
- 169) van Dongen TM, Venekamp RP, Wensing AM, Bogaert D, Sanders EA, Schilder AG. Acute otorrhea in children with tympanostomy tubes: prevalence of bacteria and viruses in the post-pneumococcal conjugate vaccine era. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Apr;34(4):355-60. doi: 10.1097/INF.0000000000000595.
- 170) Pichichero M, Kaur R, Scott DA, Gruber WC, Trammel J, Almudevar A, Center KJ. Effectiveness of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination for protection against acute otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae* in healthy young children: a prospective observational study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2018 Aug;2(8):561-568. doi: 10.1016/S2352-4642(18)30168-8.
- 171) Kaplan SL, Center KJ, Barson WJ, Ling-Lin P, Romero JR, Bradley JS, Tan TQ, Hoffman JA, Peters TR, Gurtman A, Scott DA, Trammel J, Gruber WC, Hulten KG,

- Mason EO. Multicenter surveillance of *Streptococcus pneumoniae* isolates from middle ear and mastoid cultures in the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine era. *Clin Infect Dis*. 2015 May 1;60(9):1339-45. doi: 10.1093/cid/civ067.
- 172) Ben-Shimol S, Givon-Lavi N, Leibovitz E, Raiz S, Greenberg D, Dagan R. Impact of Widespread Introduction of Pneumococcal Conjugate Vaccines on Pneumococcal and Nonpneumococcal Otitis Media. *Clin Infect Dis*. 2016 Sep 1;63(5):611-8. doi: 10.1093/cid/ciw347.
- 173) Kaur R, Casey JR, Pichichero ME. Relationship with original pathogen in recurrence of acute otitis media after completion of amoxicillin/clavulanate: bacterial relapse or new pathogen. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Nov;32(11):1159-62. doi: 10.1097/INF.0b013e31829e3779.
- 174) Sarasoja I, Jokinen J, Lahdenkari M, Kilpi T, Palmu AA. Long-term effect of pneumococcal conjugate vaccines on tympanostomy tube placements. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 May;32(5):517-20. doi: 10.1097/INF.0b013e31827c9bcc.
- 175) Kaur R, Czup K, Casey JR, Pichichero ME. Correlation of nasopharyngeal cultures prior to and at onset of acute otitis media with middle ear fluid cultures. *BMC Infect Dis*. 2014 Dec 5;14:640. doi: 10.1186/s12879-014-0640-y.
- 176) Martin JM, Hoberman A, Paradise JL, Barbadora KA, Shaikh N, Bhatnagar S, Shope T, Block SL, Haralam MA, Kurs-Lasky M, Colborn DK, Green M. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* serogroups 15 and 35 in nasopharyngeal cultures from young children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Nov;33(11):e286-90. doi: 10.1097/INF.0000000000000445.
- 177) Rajam G, Carlone GM, Romero-Steiner S. Functional antibodies to the O-acetylated pneumococcal serotype 15B capsular polysaccharide have low cross-reactivities with serotype 15C. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Sep;14(9):1223-7. doi: 10.1128/CVI.00184-07.
- 178) Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, Romero JR, Bradley JS, Tan TQ, Hoffman JA, Givner LB, Mason EO Jr. Early trends for invasive pneumococcal infections in children after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Mar;32(3):203-7. doi: 10.1097/INF.0b013e318275614b.
- 179) Rovers MM. The burden of otitis media. *Vaccine*. 2008 Dec 23;26 Suppl 7:G2-4. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.11.005.
- 180) Grijalva CG, Nuorti JP, Griffin MR. Antibiotic prescription rates for acute respiratory tract infections in US ambulatory settings. *JAMA*. 2009 Aug 19;302(7):758-66. doi: 10.1001/jama.2009.1163.

- 181) Guillemot D, Carbon C, Balkau B, Geslin P, Lecoœur H, Vauzelle-Kervroëdan F, Bouvenot G, Eschwège E. Low dosage and long treatment duration of beta-lactam: risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *JAMA*. 1998 Feb 4;279(5):365-70. doi: 10.1001/jama.279.5.365.
- 182) Hoberman A, Paradise JL, Rockette HE, Kearney DH, Bhatnagar S, Shope TR, Martin JM, Kurs-Lasky M, Copelli SJ, Colborn DK, Block SL, Labella JJ, Lynch TG, Cohen NL, Haralam M, Pope MA, Nagg JP, Green MD, Shaikh N. Shortened Antimicrobial Treatment for Acute Otitis Media in Young Children. *N Engl J Med*. 2016 Dec 22;375(25):2446-2456. doi: 10.1056/NEJMoa1606043.
- 183) Lewnard JA, Tähtinen PA, Laine MK, Lindholm L, Jalava J, Huovinen P, Lipsitch M, Ruohola A. Impact of Antimicrobial Treatment for Acute Otitis Media on Carriage Dynamics of Penicillin-Susceptible and Penicillin-Nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis*. 2018 Sep 22;218(9):1356-1366. doi: 10.1093/infdis/jiy343.
- 184) Venekamp RP, Sanders SL, Glasziou PP, Del Mar CB, Rovers MM. Antibiotics for acute otitis media in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jun 23;2015(6):CD000219. doi: 10.1002/14651858.CD000219.pub4.
- 185) McCormick DP, Chonmaitree T, Pittman C, Saeed K, Friedman NR, Uchida T, Baldwin CD. Nonsevere acute otitis media: a clinical trial comparing outcomes of watchful waiting versus immediate antibiotic treatment. *Pediatrics*. 2005 Jun;115(6):1455-65. doi: 10.1542/peds.2004-1665.
- 186) Schrag SJ, Peña C, Fernández J, Sánchez J, Gómez V, Pérez E, Feris JM, Besser RE. Effect of short-course, high-dose amoxicillin therapy on resistant pneumococcal carriage: a randomized trial. *JAMA*. 2001 Jul 4;286(1):49-56. doi: 10.1001/jama.286.1.49.
- 187) Halloran ME, Struchiner CJ, Longini IM Jr. Study designs for evaluating different efficacy and effectiveness aspects of vaccines. *Am J Epidemiol*. 1997 Nov 15;146(10):789-803. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009196.
- 188) Palmu AA, Lahdenkari M. Early Vaccine-type Pneumococcal Acute Otitis Media Does not Predispose to Subsequent Otitis When Compared With Early Acute Otitis Media Due to Other Bacterial Etiology. *Pediatr Infect Dis J*. 2018 Jun;37(6):592-594. doi: 10.1097/INF.0000000000001851.
- 189) Trivedi D. Cochrane review summary: influenza vaccines for preventing acute otitis media in infants and children. *Prim Health Care Res Dev*. 2016 Mar;17(2):105-6. doi: 10.1017/S1463423615000584.

- 190) Palmu AA, Verho J, Jokinen J, Karma P, Kilpi TM. The seven-valent pneumococcal conjugate vaccine reduces tympanostomy tube placement in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2004 Aug;23(8):732-8. doi: 10.1097/01.inf.0000133049.30299.5d.
- 191) Dagan R, Ben Shimol S, Leibovitz E et al. Implementation of PCV7/PCV13 in Israel had an impact on both pneumococcal and non-pneumococcal complex otitis media rates. *ID WEEK. Philadelphia USA.*2014;8-12
<https://idsa.confex.com/idsa/2014/webprogram/Paper45636.html>
- 192) Huang SS, Hinrichsen VL, Stevenson AE, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Pelton SI, Lipsitch M, Hanage WP, Lee GM, Finkelstein JA. Continued impact of pneumococcal conjugate vaccine on carriage in young children. *Pediatrics.* 2009 Jul;124(1):e1-11. doi: 10.1542/peds.2008-3099.
- 193) Pichichero ME. Ten-Year Study of Acute Otitis Media in Rochester, NY. *Pediatr Infect Dis J.* 2016 Sep;35(9):1027-32. doi: 10.1097/INF.0000000000001216.
- 194) Hanage WP, Auranen K, Syrjänen R, Herva E, Mäkelä PH, Kilpi T, Spratt BG. Ability of pneumococcal serotypes and clones to cause acute otitis media: implications for the prevention of otitis media by conjugate vaccines. *Infect Immun.* 2004 Jan;72(1):76-81. doi: 10.1128/IAI.72.1.76-81.2004.
- 195) Hanage WP, Kajjalainen TH, Syrjänen RK, Auranen K, Leinonen M, Mäkelä PH, Spratt BG. Invasiveness of serotypes and clones of *Streptococcus pneumoniae* among children in Finland. *Infect Immun.* 2005 Jan;73(1):431-5. doi: 10.1128/IAI.73.1.431-435.2005.
- 196) Ekström N, Ahman H, Palmu A, Grönholm S, Kilpi T, Käyhty H; FinOM Study Group. Concentration and high avidity of pneumococcal antibodies persist at least 4 years after immunization with pneumococcal conjugate vaccine in infancy. *Clin Vaccine Immunol.* 2013 Jul;20(7):1034-40. doi: 10.1128/CVI.00039-13.
- 197) Lewnard JA, Givon-Lavi N, Huppert A, Pettigrew MM, Regev-Yochay G, Dagan R, Weinberger DM. Epidemiological Markers for Interactions Among *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus* in Upper Respiratory Tract Carriage. *J Infect Dis.* 2016 May 15;213(10):1596-605. doi: 10.1093/infdis/jiv761.
- 198) Wang W, Zhou A, Zhang X, Xiang Y, Huang Y, Wang L, Zhang S, Liu Y, Yin Y, He Y. Interleukin 17A promotes pneumococcal clearance by recruiting neutrophils and inducing apoptosis through a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism in acute otitis media. *Infect Immun.* 2014 Jun;82(6):2368-77. doi: 10.1128/IAI.00006-14.

- 199) Cohen JM, Khandavilli S, Camberlein E, Hyams C, Baxendale HE, Brown JS. Protective contributions against invasive *Streptococcus pneumoniae* pneumonia of antibody and Th17-cell responses to nasopharyngeal colonisation. *PLoS One*. 2011;6(10):e25558. doi: 10.1371/journal.pone.0025558.
- 200) Nokso-Koivisto J, Marom T, Chonmaitree T. Importance of viruses in acute otitis media. *Curr Opin Pediatr*. 2015 Feb;27(1):110-5. doi: 10.1097/MOP.0000000000000184.
- 201) Friedel V, Chang A, Wills J, Vargas R, Xu Q, Pichichero ME. Impact of respiratory viral infections on α -hemolytic streptococci and otopathogens in the nasopharynx of young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Jan;32(1):27-31. doi: 10.1097/INF.0b013e31826f6144.
- 202) Kurabi A, Pak K, Ryan AF, Wasserman SI. Innate Immunity: Orchestrating Inflammation and Resolution of Otitis Media. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(1):6. doi:10.1007/s11882-015-0585-2
- 203) Xiang Y, Jin C, Wang W, Wang Z, Huang Y, Fan F, Ma Y, Zhang X, Xu W, Yin Y, He Y. The critical role of myeloperoxidase in *Streptococcus pneumoniae* clearance and tissue damage during mouse acute otitis media. *Innate Immun*. 2017 Apr;23(3):296-306. doi: 10.1177/1753425917693907.
- 204) Smith-Vaughan H, Byun R, Nadkarni M, Jacques NA, Hunter N, Halpin S, Morris PS, Leach AJ. Measuring nasal bacterial load and its association with otitis media. *BMC Ear Nose Throat Disord*. 2006 May 10;6:10. doi: 10.1186/1472-6815-6-10.
- 205) Morris MC, Pichichero ME. *Streptococcus pneumoniae* burden and nasopharyngeal inflammation during acute otitis media. *Innate Immun*. 2017 Nov;23(8):667-677. doi: 10.1177/1753425917737825.
- 206) Vidy A, Maisonnasse P, Da Costa B, Delmas B, Chevalier C, Le Goffic R. The Influenza Virus Protein PB1-F2 Increases Viral Pathogenesis through Neutrophil Recruitment and NK Cells Inhibition. *PLoS One*. 2016 Oct 31;11(10):e0165361. doi: 10.1371/journal.pone.0165361.
- 207) Baumgartner D, Aebi S, Grandgirard D, Leib SL, Draeger A, Babiyshuk E, Hathaway LJ. Clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates induce differing CXCL8 responses from human nasopharyngeal epithelial cells which are reduced by liposomes. *BMC Microbiol*. 2016 Jul 19;16(1):154. doi: 10.1186/s12866-016-0777-5.
- 208) Sharma SK, Casey JR, Pichichero ME. Reduced memory CD4+ T-cell generation in the circulation of young children may contribute to the otitis-prone condition. *J Infect Dis*. 2011 Aug 15;204(4):645-53. doi: 10.1093/infdis/jir340.

- 209) Falup-Pecurariu O. Lessons learnt after the introduction of the seven valent-pneumococcal conjugate vaccine toward broader spectrum conjugate vaccines. *Biomed J.* 2012 Nov-Dec;35(6):450-6. doi: 10.4103/2319-4170.104409.
- 210) Greenberg D, Givon-Lavi N, Newman N, Bar-Ziv J, Dagan R. Nasopharyngeal carriage of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes during pediatric pneumonia as a means to estimate serotype disease potential. *Pediatr Infect Dis J.* 2011 Mar;30(3):227-33. doi: 10.1097/INF.0b013e3181f87802.
- 211) Grijalva CG, Poehling KA, Nuorti JP, Zhu Y, Martin SW, Edwards KM, Griffin MR. National impact of universal childhood immunization with pneumococcal conjugate vaccine on outpatient medical care visits in the United States. *Pediatrics.* 2006 Sep;118(3):865-73. doi: 10.1542/peds.2006-0492.
- 212) Wals PD, Carbon M, Sévin E, Deceuninck G, Ouakki M. Reduced physician claims for otitis media after implementation of pneumococcal conjugate vaccine program in the province of Quebec, Canada. *Pediatr Infect Dis J.* 2009 Sep;28(9):e271-5. doi: 10.1097/INF.0b013e3181bad212.
- 213) Jardine A, Menzies RI, Deeks SL, Patel MS, McIntyre PB. The impact of pneumococcal conjugate vaccine on rates of myringotomy with ventilation tube insertion in Australia. *Pediatr Infect Dis J.* 2009 Sep;28(9):761-5. doi: 10.1097/INF.0b013e31819e9bc5.
- 214) Poehling KA, Szilagyi PG, Grijalva CG, Martin SW, LaFleur B, Mitchel E, Barth RD, Nuorti JP, Griffin MR. Reduction of frequent otitis media and pressure-equalizing tube insertions in children after introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics.* 2007 Apr;119(4):707-15. doi: 10.1542/peds.2006-2138. Erratum in: *Pediatrics.* 2007 Jun;119(6):1270.
- 215) Durando P, Crovari P, Ansaldi F, Sticchi L, Sticchi C, Turello V, Marensi L, Giacchino R, Timitilli A, Carloni R, Azzari C, Icardi G; Collaborative Group for Pneumococcal Vaccination in Liguria. Universal childhood immunisation against *Streptococcus pneumoniae*: the five-year experience of Liguria Region, Italy. *Vaccine.* 2009 May 26;27(25-26):3459-62. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.01.052.
- 216) Zhou F, Shefer A, Kong Y, Nuorti JP. Trends in acute otitis media-related health care utilization by privately insured young children in the United States, 1997-2004. *Pediatrics.* 2008 Feb;121(2):253-60. doi: 10.1542/peds.2007-0619.
- 217) Hoberman A, Paradise JL, Shaikh N, Greenberg DP, Kearney DH, Colborn DK, Rockette HE, Kurs-Lasky M, McEllistrem MC, Zoffel LM, Balentine TL, Barbadora KA, Wald ER. Pneumococcal resistance and serotype 19A in Pittsburgh-area children

- with acute otitis media before and after introduction of 7-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Clin Pediatr (Phila)*. 2011 Feb;50(2):114-20. doi: 10.1177/0009922810384259.
- 218) Heath PT. Epidemiology and bacteriology of bacterial pneumonias. *Paediatr Respir Rev*. 2000 Mar;1(1):4-7. doi: 10.1053/prrv.2000.0001.
- 219) Usonis V, Ivaskevicius R, Diez-Domingo J, Esposito S, Falup-Pecurariu OG, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Greenberg D; CAP-PRI Working Group. Comparison between diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children in various medical centres across Europe with the United States, United Kingdom and the World Health Organization guidelines. *Pneumonia (Nathan)*. 2016 May 2;8:5. doi: 10.1186/s41479-016-0005-y.
- 220) Ayieko P, English M. Case management of childhood pneumonia in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 May;26(5):432-40. doi: 10.1097/01.inf.0000260107.79355.7d.
- 221) Principi N, Esposito S. Management of severe community-acquired pneumonia of children in developing and developed countries. *Thorax*. 2011 Sep;66(9):815-22. doi: 10.1136/thx.2010.142604.
- 222) Ross RK, Hersh AL, Kronman MP, Newland JG, Metjian TA, Localio AR, Zaoutis TE, Gerber JS. Impact of Infectious Diseases Society of America/Pediatric Infectious Diseases Society guidelines on treatment of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Clin Infect Dis*. 2014 Mar;58(6):834-8. doi: 10.1093/cid/ciu013.
- 223) Jain S, Williams DJ, Arnold SR, Ampofo K, Bramley AM, Reed C, Stockmann C, Anderson EJ, Grijalva CG, Self WH, Zhu Y, Patel A, Hymas W, Chappell JD, Kaufman RA, Kan JH, Dansie D, Lenny N, Hillyard DR, Haynes LM, Levine M, Lindstrom S, Winchell JM, Katz JM, Erdman D, Schneider E, Hicks LA, Wunderink RG, Edwards KM, Pavia AT, McCullers JA, Finelli L; CDC EPIC Study Team. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med*. 2015 Feb 26;372(9):835-45. doi: 10.1056/NEJMoa1405870.
- 224) O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, Lee E, Mulholland K, Levine OS, Cherian T; Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*. 2009 Sep 12;374(9693):893-902. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61204-6.
- 225) Koshy E, Murray J, Bottle A, Sharland M, Saxena S. Impact of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccination (PCV7) programme on childhood hospital

- admissions for bacterial pneumonia and empyema in England: national time-trends study, 1997-2008. *Thorax*. 2010 Sep;65(9):770-4. doi: 10.1136/thx.2010.137802.
- 226) Dagan R, Klugman KP. Impact of conjugate pneumococcal vaccines on antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis*. 2008 Dec;8(12):785-95. doi: 10.1016/S1473-3099(08)70281-0.
- 227) Falup-Pecurariu OG, Diez-Domingo J, Esposito S, Finn A, Rodrigues F, Spoulou V, Syrogiannopoulos GA, Usonis V, Greenberg D; CAP-PRI. Clinical and laboratory features of children with community-acquired pneumonia are associated with distinct radiographic presentations. *Eur J Pediatr*. 2018 Jul;177(7):1111-1120. doi: 10.1007/s00431-018-3165-3.
- 228) Moustaki M, Zeis PM, Katsikari M, Fretzayas A, Grafakou O, Stabouli S, Tsolia M, Nicolaidou P, Karpathios T. Mesenteric lymphadenopathy as a cause of abdominal pain in children with lobar or segmental pneumonia. *Pediatr Pulmonol*. 2003 Apr;35(4):269-73. doi: 10.1002/ppul.10254.
- 229) Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*. 2011 Apr 9;377(9773):1264-75. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61459-6.
- 230) Gijón M, Bellusci M, Petraitiene B, Noguera-Julian A, Zilinskaite V, Sanchez Moreno P, Saavedra-Lozano J, Glikman D, Daskalaki M, Kaiser-Labusch P, Falup-Pecurariu O, Montagnani C, Prieto L, Gené A, Trumpulyte G, Kulecnikova I, Lepe JA, Cercenado E, Kudinsky R, Makri A, Huppertz HI, Bleotu L, Cocchi P, García-Hierro P, Vitkauskiene A, Fortuny C, Zukovskaja V, Neth O, Santos M, Rokney A, Petra M, Lixandru R, Galli L, Guillén S, Chaves F, Rojo Conejo P. Factors associated with severity in invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children: a prospective European multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Jul;22(7):643.e1-6. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.004.
- 231) Kaplan SL, Hulten KG, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth L, Versalovic J, Mason EO Jr. Three-year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis*. 2005 Jun 15;40(12):1785-91. doi: 10.1086/430312.
- 232) Dohin B, Gillet Y, Kohler R, Lina G, Vandenesch F, Vanhems P, Floret D, Etienne J. Pediatric bone and joint infections caused by Pantón-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus*. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Nov;26(11):1042-8. doi: 10.1097/INF.0b013e318133a85e.
- 233) Cunnington A, Brick T, Cooper M, Danin J, Hunt D, Jeanes A, Kearns AM, Nolan M, Lyall H. Severe invasive Pantón-Valentine Leucocidin positive *Staphylococcus aureus*

- infections in children in London, UK. *J Infect.* 2009 Jul;59(1):28-36. doi: 10.1016/j.jinf.2009.05.003.
- 234) Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999 Nov;29(5):1128-32. doi: 10.1086/313461.
- 235) Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, Monteil H, Piemont Y. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol.* 1995 Apr;42(4):237-45. doi: 10.1099/00222615-42-4-237.
- 236) Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol.* 2005 May;43(5):2384-90. doi: 10.1128/JCM.43.5.2384-2390.2005.
- 237) Sdougkos, G., Chini, V., Papanastasiou, D.A., Christodoulou, G., Tagaris, .G., Dimitracopoulos, G. and Spiliopoulou, .I. (2007), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Panton–Valentine leukocidin as a cause of acute osteomyelitis in children. *Clinical Microbiology and Infection*, 13: 651-654. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01713.x>
- 238) Finelli L, Fiore A, Dhara R, Brammer L, Shay DK, Kamimoto L, Fry A, Hageman J, Gorwitz R, Bresee J, Uyeki T. Influenza-associated pediatric mortality in the United States: increase of *Staphylococcus aureus* coinfection. *Pediatrics.* 2008 Oct;122(4):805-11. doi: 10.1542/peds.2008-1336.
- 239) Gorenstein A, Gross E, Houri S, Gewirts G, Katz S. The pivotal role of deep vein thrombophlebitis in the development of acute disseminated staphylococcal disease in children. *Pediatrics.* 2000 Dec;106(6):E87. doi: 10.1542/peds.106.6.e87.
- 240) Dumitrescu O, Boisset S, Badiou C, Bes M, Benito Y, Reverdy ME, Vandenesch F, Etienne J, Lina G. Effect of antibiotics on *Staphylococcus aureus* producing Panton-Valentine leukocidin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Apr;51(4):1515-9. doi: 10.1128/AAC.01201-06.
- 241) Falup-Pecurariu O, Man SC, Neamtu ML, Chicin G, Baciú G, Pitic C, Cara AC, Neculau AE, Burlea M, Brinza IL, Schnell CN, Sas V, Lupu VV, François N, Swinnen K, Borys D. Effects of prophylactic ibuprofen and paracetamol administration on the immunogenicity and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugated vaccine (PHiD-CV) co-administered with DTPa-combined vaccines in children: An open-label, randomized, controlled, non-

- inferiority trial. *Hum Vaccin Immunother.* 2017 Mar 4;13(3):649-660. doi: 10.1080/21645515.2016.1223001.
- 242) Wysocki J, Center KJ, Brzostek J, Majda-Stanislawski E, Szymanski H, Szenborn L, Czajka H, Hasiec B, Dziduch J, Jackowska T, Witor A, Kopińska E, Konior R, Giardina PC, Sundaraiyer V, Patterson S, Gruber WC, Scott DA, Gurtman A. A randomized study of fever prophylaxis and the immunogenicity of routine pediatric vaccinations. *Vaccine.* 2017 Apr 4;35(15):1926-1935. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.02.035.
- 243) Prymula R, Esposito S, Zuccotti GV, Xie F, Toneatto D, Kohl I, Dull PM. A phase 2 randomized controlled trial of a multicomponent meningococcal serogroup B vaccine (I). *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(7):1993-2004. doi: 10.4161/hv.28666.
- 244) Tucci, J., Bandiera, E., Darwiche, R., Medos, Z., Nashed, R. and Trinh, D. (2009), Paracetamol and Ibuprofen for Paediatric Pain and Fever. *Journal of Pharmacy Practice and Research*, 39: 223-225. <https://doi.org/10.1002/j.2055-2335.2009.tb00458.x>
- 245) Kis B, Snipes JA, Busija DW. Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainties. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005 Oct;315(1):1-7. doi: 10.1124/jpet.105.085431.
- 246) Purssell E. Cyclooxygenase inhibitors inhibit antibody response through interference with MAPK/ERK pathways and BLIMP-1 inhibition. *Med Hypotheses.* 2014 Sep;83(3):372-7. doi: 10.1016/j.mehy.2014.06.015.
- 247) Prokopowicz ZM, Arce F, Biedroń R, Chiang CL, Ciszek M, Katz DR, Nowakowska M, Zapotoczny S, Marcinkiewicz J, Chain BM. Hypochlorous acid: a natural adjuvant that facilitates antigen processing, cross-priming, and the induction of adaptive immunity. *J Immunol.* 2010 Jan 15;184(2):824-35. doi: 10.4049/jimmunol.0902606.
- 248) Parepally JM, Mandula H, Smith QR. Brain uptake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: ibuprofen, flurbiprofen, and indomethacin. *Pharm Res.* 2006 May;23(5):873-81. doi: 10.1007/s11095-006-9905-5.
- 249) Cencioni MT, Chiurchiù V, Catanzaro G, Borsellino G, Bernardi G, Battistini L, Maccarrone M. Anandamide suppresses proliferation and cytokine release from primary human T-lymphocytes mainly via CB2 receptors. *PLoS One.* 2010 Jan 14;5(1):e8688. doi: 10.1371/journal.pone.0008688.
- 250) Kassianos G, Blank P, Falup-Pecurariu O, Kuchar E, Kyncl J, De Lejarazu RO, Nitsch-Osuch A, van Essen GA. Influenza vaccination: key facts for general practitioners in Europe—a synthesis by European experts based on national guidelines and best practices in the United Kingdom and the Netherlands. *Drugs Context.* 2016 Aug 3;5:212293. doi: 10.7573/dic.212293.

- 251) Blank P, Schwenkglenks M, Szucs TD. The impact of European vaccination policies on seasonal influenza vaccination coverage rates in the elderly. *Hum Vaccin Immunother.* 2012 Mar;8(3):328-35. doi: 10.4161/hv.18629.
- 252) Kassianos G. Willingness of European healthcare workers to undergo vaccination against seasonal influenza: current situation and suggestions for improvement. *Drugs Context.* 2015 Jan 21;4:212268. doi: 10.7573/dic.212268.
- 253) European Centre for Disease Prevention and Control. Revised estimates of deaths associated with seasonal influenza in the US in 2010. Available at http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvicelayouts/forms/Review_DisForm.aspx?ListDa3216f4c-f040-4f51-9f77-a96046dbfd72&IDD394,
- 254) Verger P, Fressard L, Collange F, Gautier A, Jestin C, Launay O, Raude J, Pulcini C, Peretti-Watel P. Vaccine Hesitancy Among General Practitioners and Its Determinants During Controversies: A National Cross-sectional Survey in France. *EBioMedicine.* 2015 Jun 23;2(8):891-7. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.06.018.
- 255) Karafillakis E, Dinca I, Apfel F, Cecconi S, Würz A, Takacs J, Suk J, Celentano LP, Kramarz P, Larson HJ. Vaccine hesitancy among healthcare workers in Europe: A qualitative study. *Vaccine.* 2016 Sep 22;34(41):5013-5020. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.08.029.
- 256) Maiman, L. and M. H. Becker. The Health Belief Model: Origins and Correlates in Psychological Theory. *Health Education & Behavior* 2.1974: 336 - 353.
- 257) Vallée-Tourangeau G, Promberger M, Moon K, Wheelock A, Sirota M, Norton C, Sevdalis N. Motors of influenza vaccination uptake and vaccination advocacy in healthcare workers: Development and validation of two short scales. *Vaccine.* 2018 Oct 22;36(44):6540-6545. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.08.025.
- 258) Michie S, van Stralen MM, West R. The behaviour change wheel: a new method for characterising and designing behaviour change interventions. *Implement Sci.* 2011 Apr 23;6:42. doi: 10.1186/1748-5908-6-42.
- 259) Dubé E, Gagnon D, MacDonald NE; SAGE Working Group on Vaccine Hesitancy. Strategies intended to address vaccine hesitancy: Review of published reviews. *Vaccine.* 2015 Aug 14;33(34):4191-203. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.041.
- 260) Gust DA, Woodruff R, Kennedy A, Brown C, Sheedy K, Hibbs B. Parental perceptions surrounding risks and benefits of immunization. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2003 Jul;14(3):207-12. doi: 10.1016/s1045-1870(03)00035-9.

- 261) Llupia A, Mena G, Olivé V, Quesada S, Aldea M, Sequera VG, Ríos J, García-Basteiro AL, Varela P, Bayas JM, Trilla A. Evaluating influenza vaccination campaigns beyond coverage: a before-after study among health care workers. *Am J Infect Control*. 2013 Aug;41(8):674-8. doi: 10.1016/j.ajic.2013.04.006.
- 262) Centola D. The spread of behavior in an online social network experiment. *Science*. 2010 Sep 3;329(5996):1194-7. doi: 10.1126/science.1185231.
- 263) Maltezou HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, Carlsson RM, Heininger U, Hübschen JM, Josefsdottir KS, Kassianos G, Kyncl J, Ledda C, Medić S, Nitsch-Osuch A, de Lejarazu RO, Theodoridou M, Van Damme P, van Essen GA, Wicker S, Wiedermann U, Poland GA; Vaccination Policies for HCP in Europe Study Group. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. *Vaccine*. 2019 Dec 10;37(52):7576-7584. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.061.
- 264) ECDC. Monthly measles and rubella monitoring report. July 2018
<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/monthly-measles-and-rubella-monitoring-report-july-2018>
- 265) Heininger U. Vaccination of health care workers against pertussis: meeting the need for safety within hospitals. *Vaccine*. 2014 Aug 27;32(38):4840-3. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.10.062.
- 266) Maltezou HC, Poland GA. Immunization of Health-Care Providers: Necessity and Public Health Policies. *Healthcare (Basel)*. 2016 Aug 1;4(3):47. doi: 10.3390/healthcare4030047.
- 267) Directive 200/54/EC of the European parliament and the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to biological agents at work. (Article 14: Health surveillance)
- 268) WHO. Table 4: Summary of WHO position papers: immunization of health care workers. Upload August 2018
https://www.who.int/immunization/policy/Immunization_routine_table4.pdf
- 269) Blank PR, van Essen GA, Ortiz de Lejarazu R, Kyncl J, Nitsch-Osuch A, Kuchar EP, Falup-Pecurariu O, Maltezou HC, Zavadská D, Kristufkova Z, Kassianos G. Impact of European vaccination policies on seasonal influenza vaccination coverage rates: An update seven years later. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(11):2706-2714. doi: 10.1080/21645515.2018.1489948.
- 270) Council of the European Union. Council of the European Union Recommendation of 22 december 2009 on seasonal influenza vaccination

- 271) Preaud E, Durand L, Macabeo B, Farkas N, Sloesen B, Palache A, Shupo F, Samson SI; Vaccines Europe influenza working group. Annual public health and economic benefits of seasonal influenza vaccination: a European estimate. *BMC Public Health*. 2014 Aug 7;14:813. doi: 10.1186/1471-2458-14-813.
- 272) OECD. Influenza vaccination rates indicator.2018
<https://data.oecd.org/healthcare/influenza-vaccination-rates.htm>
- 273) Fernandez HH, Friedman JH. Acute Parkinsonism. In: Frucht SJ (ed) *Movement disorders emergencies: diagnosis and treatment*. Springer Science + Business Media, 2013, New York, 9-23, doi: 10.1007/978-1-60761-835-5.
- 274) Falup-Pecurariu C, Diaconu Ș, Falup-Pecurariu O, Ciopleiaș B, Sîrbu CA. Acute reversible parkinsonism post-influenza infection. *Acta Neurol Belg*. 2020 Jun;120(3):723-724. doi: 10.1007/s13760-019-01215-2.
- 275) Davis LE, Koster F, Cawthon A. Neurologic aspects of influenza viruses. *Handb Clin Neurol*. 2014;123:619-45. doi: 10.1016/B978-0-444-53488-0.00030-4.
- 276) Limphaibool N, Iwanowski P, Holstad MJV, Kobylarek D, Kozubski W. Infectious Etiologies of Parkinsonism: Pathomechanisms and Clinical Implications. *Front Neurol*. 2019 Jun 19;10:652. doi: 10.3389/fneur.2019.00652.
- 277) Pop TL, Burlea M, Falup-Pecurariu O, Borzan C, Gabor-Harosa F, Herdea V, Pop CF, Rajka D, Ognean ML, Căinap SS. Overview of the pediatric healthcare system in Romania. *Turk Pediatri Ars*. 2020 Sep 1;55(Suppl 1):69-84. doi: 10.14744/TurkPediatriArs.2020.77775.
- 278) Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, Lorrot M, Mantadakis E, Peltola H, Rojo P, Zaoutis T, LeMair A. Bone and Joint Infections. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Aug;36(8):788-799. doi: 10.1097/INF.0000000000001635.
- 279) Falup-Pecurariu O, Leibovitz E, Vorovenci C, Lixandru R, Rochman F, Monescu V, Leibovitz R, Bleotu L, Falup-Pecurariu C. First UTI episode in life in infants <1 year of age: Epidemiologic, clinical, microbiologic and disease recurrence characteristics. *Pediatr Neonatol*. 2020 Dec;61(6):613-619. doi: 10.1016/j.pedneo.2020.07.008.
- 280) Falup-Pecurariu, O, Leibovitz E, Bucur M, Lixandru R, Bleotu, L, Falup-Pecurariu C. (2017). High resistance rates to 2nd and 3rd generation cephalosporins, ciprofloxacin and gentamicin of the uropathogens isolated in young infants hospitalized with first urinary tract infection. *Biomedical Research (India)*. 28. 8675-8680.
- 281) Hazan G, Ben-Shimol S, Fruchtman Y, Abu-Quider A, Kapelushnik J, Moser A, Falup-Pecurariu O, Greenberg D. Clinical and laboratory parameter dynamics as markers

- of blood stream infections in pediatric oncology patients with fever and neutropenia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014 Jul;36(5):e275-9. doi: 10.1097/MPH.000000000000057.
- 282) Falup-Pecurariu O, Lixandru RI, Cojocaru E, Csutak K, Monescu V, Muhsen K, Falup-Pecurariu C, Cohen D. Shiga toxin producing *Escherichia coli*-associated diarrhea and hemolytic uremic syndrome in young children in Romania. *Gut Pathog*. 2019 Sep 25;11:46. doi: 10.1186/s13099-019-0327-4.
- 283) Esposito S, Jones MH, Feleszko W, Martell JAO, Falup-Pecurariu O, Geppe N, Martínón-Torres F, Shen KL, Roth M, Principi N. Prevention of New Respiratory Episodes in Children with Recurrent Respiratory Infections: An Expert Consensus Statement. *Microorganisms*. 2020 Nov 17;8(11):1810. doi: 10.3390/microorganisms8111810.
- 284) Goldblatt D, Johnson M, Falup-Pecurariu O, Ivaskeviciene I, Spoulou V, Tamm E, Wagner M, Zar HJ, Bleotu L, Ivaskevicius R, Papadatou I, Jögi P, Lischka J, Franckling-Smith Z, Isarova D, Grandjean L, Zavadska D. Cross-sectional prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in paediatric facilities in eight countries. *J Hosp Infect*. 2021 Apr;110:60-66. doi: 10.1016/j.jhin.2020.12.019.
- 285) Shields A, Faustini SE, Perez-Toledo M, Jossi S, Aldera E, Allen JD, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence and asymptomatic viral carriage in healthcare workers: a cross-sectional study. *Thorax* 2020;75:1089-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-215414>
- 286) Self WH, Tenforde MW, Stubblefield WB, Feldstein LR, Steingrub JS, Shapiro NI, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 among frontline health care personnel in a multistate hospital network e 13 academic medical centers, AprileJune 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020;69:1221-6. doi: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6935e2>
- 287) Garcia-Basteiro AL, Moncunill G, Tortajada M, Vidal M, Guinovart C, Jimenez A, et al. Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nat Commun* 2020;11:3500. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17318-x>
- 288) Grant JJ, Wilmore SMS, McCann NS, Donnelly O, Lai RWL, Kinsella MJ, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers at a London NHS trust. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020:1-3. doi: <https://doi.org/10.1017/ice.2020.402>.
- 289) Gotzinger F, Santiago-Garcia B, Noguera-Julian A, Lanaspá M, Lancella L, Calo Carducci FI, et al. COVID-19 in children and adolescents in Europe: a multinational, multicentre cohort study. *Lancet Child Adolesc Health* 2020;4:653-61. doi: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(20\)30177-2](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(20)30177-2).

- 290) Amendola A, Tanzi E, Folgori L, Barcellini L, Bianchi S, Gori M, et al. Low seroprevalence of SARS-CoV-2 infection among healthcare workers of the largest children hospital in Milan during the pandemic wave. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020;41:1468-9. doi: <https://doi.org/10.1017/ice.2020.401>.
- 291) Steensels D, Oris E, Coninx L, Nuyens D, Delforge ML, Vermeersch P, et al. Hospital-wide SARS-CoV-2 antibody screening in 3056 staff in a tertiary center in Belgium. *JAMA* 2020;324:195-7. doi: [10.1001/jama.2020.11160](https://doi.org/10.1001/jama.2020.11160).
- 292) Dacosta-Urbieta AR-CI, Pardo-Seco J, Redondo-Collazo L, Salas A, Go´mez-Rial J, Martino´n-Torres F. Seroprevalence of SARS-CoV-2 among pediatric healthcare workers in Spain. *Front Pediatr* 2020;8:547. doi: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00547>.

