



UNIVERSITATEA  
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA



Co-funded by  
the European Union

Project no. 2023-1-RO01-KA220-HED-000164767



# UN CADRU EUROPEAN INTERDISCIPLINAR ȘI TRANSLAȚIONAL PENTRU SOLURI LIPSITE DE POLUARE, CARE SĂ GENEREZE RESURSE SIGURE PENTRU SECURITATEA ALIMENTARĂ ȘI SUSȚINEREA SĂNĂTĂȚII UMANE

Parteneriat pentru inovare privind schimbul de bune  
practici și elaborarea de inițiative comune de  
colaborare la nivel european, legate de conștientizarea  
efectelor contaminării asupra sănătății umane

Proiect Erasmus+ Parteneriate pentru cooperare  
Editori: Pînzaru Iulia Andreea, Dehelean Cristina Adriana

**INNO-SAFE-LIFE**



**SPU**  
Slovenská  
poľnohospodárska  
univerzita v Nitre





**Co-funded by  
the European Union**



**Editura „Victor Babeș”**

Piața Eftimie Murgu Nr. 2, cam. 316, 300041 Timișoara

Tel./ Fax 0256 495 210

e-mail: [evb@umft.ro](mailto:evb@umft.ro)

[www.umft.ro/ro/organizare-evb/](http://www.umft.ro/ro/organizare-evb/)

**Director general: Prof. univ. dr. Sorin Ursoniu**

**Colecția: Manuale**

**Coordonatori colecție: Prof. univ. dr. Codruța Șoica**

**Prof. univ. dr. Daniel Lighezan**

**Referent științific: Prof. univ. dr. Daliborca Vlad**

**Indicativ CNCIS: 324**

© 2025 Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate.

Reproducerea parțială sau integrală a textului, pe orice suport, fără acordul scris al autorilor este interzisă și se va sancționa conform legilor în vigoare.

**ISBN 978-606-786-500-4**



Co-funded by  
the European Union



**Un cadru european interdisciplinar și translațional pentru soluri fără poluare care generează resurse sigure pentru securitatea alimentară și susțin sănătatea umană**

**Titlul proiectului:** Parteneriat pentru inovație privind schimbul de bune practici și elaborarea de inițiative colaborative comune la nivel european legate de conștientizarea efectelor contaminării asupra sănătății umane

**Acronimul proiectului:** INNO-SAFE-LIFE

**Proiect nr. :** 2023-1-RO01-KA220-HED-000164767

Acest curs interdisciplinar explorează abordări europene inovatoare pentru atingerea obiectivului de soluri fără poluare, care susțin securitatea alimentară și protejează sănătatea umană. El integrează știința mediului, ecologia și sănătatea publică prin patru teme principale: (i) impactul contaminanților din sol și strategiile ecologice de ultimă generație pentru remedierea acestora; (ii) provocarea rezistenței antimicrobiene determinată de factori naturali și umani, cu accent pe soluțiile ecologice; (iii) efectele toxicologice ale contaminanților de mediu asupra organismului uman și metodele verzi pentru atenuarea acestora; și (iv) importanța nutriției sănătoase și utilizarea suplimentelor alimentare sigure, validate științific, pentru promovarea stării generale de bine.

**Profesori responsabili pentru părțile teoretice:**

Coordonator (UMFVBT): Iulia Andreea Pinzaru, Cristina Adriana Dehelean, Diana Simona Tchiakpe-Antal, Codruța Marinela Soica

Partener 1 (UNICAL): Filomena Conforti, Giancarlo Statti, Mary Fucile

Partener 2 (UNIOS): Vrandečić Karolina, Ćosić Jasenka, Baličević Renata, Brigita Popovic

Partener 3 (SUA): Miroslava Kačániová, Natália Čmíková



Co-funded by  
the European Union



Partener 4 (UMFCD): Andreea Arsene, Bruno Velescu, Denisa Udeanu

Partener 5 (FAVISAN): Virginia Faur, Mirabela Faur Timofti, Anca Gidofalvi

**Profesori responsabili pentru părțile practice:**

Coordonator (UMFVBT): Oana Andrada Iftode, Daliana Ionela Minda, George Andrei Drăghici, Ștefania Dinu, Camelia Alexandrina Szuhanek

Partener 1 (UNICAL): Filomena Conforti, Giancarlo Statti, Mary Fucile

Partener 2 (UNIOS): Vrandečić Karolina, Ćosić Jasenka, Baličević Renata, Brigita Popovic

Partener 3 (SUA): Miroslava Kačániová, Natália Čmíková

Partener 4 (UMFCD): Andreea Arsene, Bruno Velescu, Denisa Udeanu





## CUPRINS

|                                                                                                                                                                   |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>CAPITOLUL 1. IMPACTUL CONTAMINANȚILOR DIN SOL ȘI METODELE VERZI INOVATOARE PENTRU REDUCEREA CONTAMINANȚILOR .....</b>                                          | <b>6</b>   |
| 1.1 Introducere și concepte cheie .....                                                                                                                           | 6          |
| 1.2 Fitoremedierea metalelor grele din soluri .....                                                                                                               | 53         |
| 1.3 Absorbția metalelor grele .....                                                                                                                               | 65         |
| 1.4 Bibliografie .....                                                                                                                                            | 71         |
| <b>CAPITOLUL 2. REZISTENȚA ANTIMICROBIANĂ DIN selecția NATURALĂ EXACERBATĂ DE FACTORI UMANI ȘI METODE VERZI INOVATOARE DE COMBATERE .....</b>                     | <b>78</b>  |
| 2.1 Introducere .....                                                                                                                                             | 78         |
| 2.2 Tipuri de teste și protocoale de lucru.....                                                                                                                   | 79         |
| 2.3 Bibliografie .....                                                                                                                                            | 116        |
| <b>CAPITOLUL 3. EFECTELE TOXICE ALE CONTAMINANȚILOR ASUPRA ORGANISMULUI UMAN ȘI METODELE VERZI INOVATOARE PENTRU REDUCEREA ACESTORA.....</b>                      | <b>121</b> |
| 3.1 Introducere .....                                                                                                                                             | 121        |
| 3.2 Efecte toxice asupra corpului uman .....                                                                                                                      | 122        |
| 3.3 Căile de expunere .....                                                                                                                                       | 137        |
| 3.4 Evaluarea contaminanților.....                                                                                                                                | 139        |
| 3.5 Metode verzi inovatoare pentru reducerea efectelor toxice ale contaminanților.....                                                                            | 142        |
| 3.6 Bibliografie .....                                                                                                                                            | 151        |
| <b>CAPITOLUL 4. ROLUL ALIMENTAȚIEI SĂNĂTOASE ȘI UTILIZAREA APROBATĂ A SUPLIMENTELOR ALIMENTARE SIGURE: ABORDĂRI INOVATOARE ȘI EVALUAREA CONȘTIENTIZĂRII .....</b> | <b>155</b> |
| 4.1 Introducere .....                                                                                                                                             | 155        |
| 4.2 Fundamentele alimentației sănătoase.....                                                                                                                      | 158        |
| 4.3 Suplimente alimentare: reglementare, siguranță și evaluare științifică .....                                                                                  | 161        |
| 4.4 Abordări inovatoare în educația nutrițională .....                                                                                                            | 165        |
| 4.5 Evaluarea nivelului de conștientizare nutrițională.....                                                                                                       | 168        |
| 4.6 Eficacitatea intervențiilor nutriționale inovatoare .....                                                                                                     | 171        |
| 4.7 Bibliografie .....                                                                                                                                            | 174        |



## **CAPITOLUL 1. IMPACTUL CONTAMINANȚILOR DIN SOL ȘI METODELE VERZI INOVATOARE PENTRU REDUCEREA CONTAMINANȚILOR**

### **1.1 Introducere și concepte cheie**

Plantele pot fi afectate de patogeni în diferite etape ale creșterii lor, influențate de factori precum condițiile meteorologice care pot crește prezența patogenilor în mediu, precum și de practicile sanitare utilizate în gestionarea culturilor. De exemplu, integrarea inadecvată a reziduurilor din culturile anterioare poate contribui la această problemă. Vulnerabilitatea unei plante la infecție apare atunci când condițiile de mediu perturbă procesele sale fiziologice, conducând la creștere afectată și funcții modificate (Nazarov et al., 2020).

În plus, apariția patogenilor plantelor este adesea amplificată de condiții favorabile, cum ar fi temperatura optimă, pH-ul solului și nivelul de umiditate. Este important de menționat că, condițiile ideale pentru apariția focarelor de patogeni pot varia semnificativ între diferiți patogeni.

Patogenii transmiși prin sol sunt agenți infecțioși care infectează plantele gazdă prin intermediul solului, spre deosebire de transmiterea prin apă sau aer. Acești patogeni provoacă boli care pot reduce semnificativ producțiile agricole la nivel mondial (Li et al., 2023). În mod obișnuit, ei pătrund în gazdele lor prin rădăcini, unii patogeni fiind specifici anumitor plante gazdă, în timp ce alții pot infecta o varietate mai largă de specii.

Mecanismele infecției includ utilizarea semnalelor moleculare pentru a evalua susceptibilitatea rădăcinilor plantelor, pătrunderea prin zone deteriorate (care pot fi cauzate de animale sau utilaje) sau, în unele cazuri, producerea de enzime care descompun compușii chimici din pereții celulari ai rădăcinilor plantelor. Invazia reușită are loc atunci când patogenul inoculează eficient și se răspândește în întreaga plantă.

Patogenii predominanți din sol care afectează plantele sunt ciupercile; totuși, bolile plantelor pot fi cauzate și de bacterii, protozoare, viruși și nematozi. De asemenea, pot



apărea boli neinfecțioase în sol din cauza condițiilor de creștere nefavorabile, iar acestea, în general, nu sunt transmise de la plante bolnave la plante sănătoase.

În contrast, bolile infecțioase ale solului pot fi transmise de la o plantă bolnavă la una sănătoasă (Nazarov et al., 2020). Este important de remarcat faptul că modificările factorilor din sol pot declanșa apariția atât a patogenilor infecțioși, cât și a celor neinfecțioși.

Patogenii transmiși prin sol pot provoca o varietate de simptome la plante, care pot varia în funcție de patogenul specific și de tipul de plantă afectat. Simptomele comune includ: căderea înainte de răsărire (pre-emergence damping-off), căderea după răsărire (post-emergence damping-off), putrezirea rădăcinilor și ofilirea vasculară.

### **Căderea înainte de răsărire (Pre-emergence Damping-off):**

Căderea înainte de răsărire este o boală a plantelor care afectează în principal semințele și răsadurile înainte ca acestea să răsară din sol. Este cauzată de diverși patogeni transmiși prin sol, inclusiv ciuperci precum *Pythium*, *Rhizoctonia* și *Fusarium*.

Căderea (damping-off) este o boală care provoacă putrezirea semințelor în germinare și a răsadurilor tinere. Poate provoca pierderi semnificative de producție pentru fermieri, afectând atât pepinierele, cât și culturile de câmp.

Căderea înainte de răsărire este mai frecventă în condiții care favorizează niveluri ridicate de umiditate, cum ar fi udarea excesivă, precipitațiile abundente sau solurile compactate. Drenajul deficitar al solului și temperaturile ridicate ale solului pot, de asemenea, agrava problema (Punja et al., 2021; Scott și Punja, 2023).

Simptomele căderii înainte de răsărire:

- Putrezirea semințelor, bulbilor și tuberculilor (Figurile 1.1 și 1.2): Semințele, bulbi și tuberculii pot putrezi în sol înainte de a avea șansa să germineze. Această degradare este adesea caracterizată printr-o textură moale și decolorare.
- Germinare slabă (Figura 1.3): Semințele afectate pot să nu germineze deloc, ducând la culturi cu răsărire neuniformă sau rară.



- Colapsul răsadurilor (Figura 1.4): Dacă răsadurile reușesc să răsară, acestea pot prezenta ofilire sau colaps la scurt timp după ieșirea la suprafața solului. Acest fenomen este adesea cauzat de putrezirea rădăcinilor sau de leziuni ale tulpinii produse de patogeni.
- Decolorare (Figura 1.5): Răsadurile care reușesc să iasă pot prezenta îngălbenire sau brunificare, în special la baza tulpinii sau pe frunze.
- Creștere întârziată: Răsadurile care supraviețuiesc pot manifesta creștere lentă și vigoare generală scăzută, devenind mai sensibile la alte boli și la stresuri de mediu.



Figura 1.1. Descompunerea semințelor de porumb



Figura 1.2. Descompunerea bulbilor de narcisă

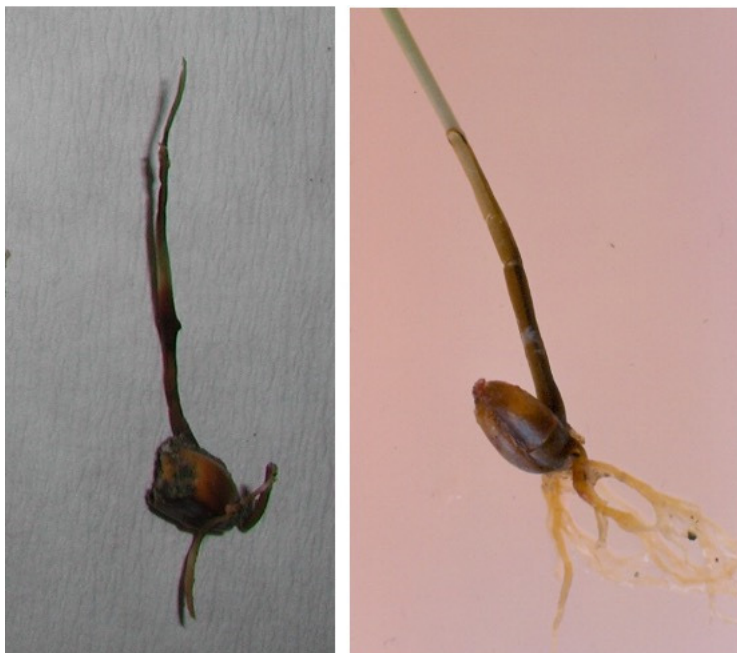


Figura 1.3. Germinare slabă a semințelor de porumb și grâu



Figura 1.4. Căderea răsadurilor





Figura 1.5. Decolorarea răsadurilor

### Căderea după răsărire

Căderea după răsărire este o afecțiune care afectează răsadurile după ce acestea au ieșit din sol (Lamichhane et al., 2017). Simptomele tipice includ:

- Ofilire: Răsadurile pot părea lăsate sau ofilite, chiar și atunci când solul este suficient de umed.
- Creștere întârziată: Plantele afectate prezintă adesea o rată de creștere redusă comparativ cu răsadurile sănătoase.
- Decolorare: Frunzele pot deveni galbene sau pot prezenta alte modificări de culoare.
- Tulpini moi și putrezite: Tulpinile pot deveni moi și apoase, ducând la colapsul plantei.
- Putrezirea rădăcinilor: Rădăcinile pot apărea închise la culoare și degradate.

#### Putrezirea rădăcinilor (Root rot)

Putrezirea rădăcinilor (Figurile 1.6, 1.7 și 1.8) este o boală comună a plantelor cauzată de diverși patogeni care se dezvoltă în condiții excesiv de umede.



Simptomele includ:

- Ofilire
- Îngălbenirea frunzelor
- Creștere întârziată: Plantele pot prezenta o creștere lentă sau chiar o oprire completă a dezvoltării.
- Rădăcini închise la culoare și moi: Rădăcinile sănătoase sunt de obicei albe și ferme; cele afectate pot apărea închise la culoare, moi și apoase.
- Miros neplăcut: Un miros de putregai poate emana din sol sau din rădăcini.
- Declin general: Planta poate arăta semne de deteriorare generală, incluzând vigoare și sănătate reduse.



Figura 1.6. Putrezirea rădăcinii la sfecla de zahăr



Figura 1.7. Putrezirea rădăcinii cu Sclerotinia la floarea-soarelui



Figura 1.8. Chalara elegans pe trandafir



### Ofilirile vasculare (Vascular wilts)

Ofilirile vasculare reprezintă un tip de boală a plantelor caracterizată prin ofilirea frunzelor și a tulpinilor, cauzată de întreruperea transportului apei în cadrul sistemului vascular al plantei.

Exemple comune de boli de tip ofilire vasculară includ ofilirea cauzată de *Fusarium* (*Fusarium wilt*, Figurile 1.9, 1.10 și 1.11) și ofilirea cauzată de *Verticillium* (*Verticillium wilt*, Figura 1.12).

Acești patogeni pot provoca pierderi agricole semnificative, deoarece afectează o gamă largă de culturi și plante ornamentale.



Figura 1.9. Ofilirea datorată *Fusarium* a tomatelor





Figura 1.10. Ofilirea datorată Fusarium a crizantemei



Figura 1.11. Ofilirea datorată Fusarium a pepenelui verde





Figura 1.12. Ofilirea datorată Verticillium a florii-soarelui

### Managementul bolilor

Diferite măsuri pot fi utilizate împotriva patogenilor transmiși prin sol. Acestea includ: măsuri agrotehnice, mecanice, chimice, fizice și biologice.

Managementul Integrat al Dăunătorilor (Integrated Pest Management – IPM): Combinarea controlului biologic cu alte practici de management poate oferi o abordare mai eficientă și sustenabilă pentru gestionarea bolilor transmise prin sol.

Măsurile agrotehnice de protecție împotriva patogenilor transmiși prin sol sunt practici esențiale menite să prevină răspândirea și impactul acestor organisme dăunătoare asupra culturilor. Aceste măsuri includ:

1. Rotirea culturilor (Crop Rotation): Alternarea diferitelor culturi într-o succesiune specifică poate întrerupe ciclurile de viață ale patogenilor transmiși prin sol, reducând populațiile acestora și prevenind acumularea bolilor. În rotația culturilor, este important să se evite cultivarea speciilor de plante care sunt gazde ale acelorași agenți patogeni de importanță economică. În acest caz, se poate aștepta o creștere a apariției bolii de la un an la altul (Figurile 1.13 și 1.14).



Figura 1.13. Sămănatul repetat al grâului are ca rezultat un nivel ridicat de apariție a bolii  
(*Gaeumannomyces graminis*)



Figura 1.14. Cantitatea de inocul de *Sclerotinia sclerotiorum* crește prin alternarea florii-soarelui, soiei  
și rapiței în rotația culturilor

2. Gestionarea solului (Soil Management): Practici precum menținerea unui nivel adecvat de umiditate a solului, a valorilor corespunzătoare ale pH-ului și a conținutului de materie organică pot crea un mediu nefavorabil pentru patogeni.

Aceasta include practici precum mulcirea (Figura 1.15) și cultivarea de culturi de acoperire (*cover cropping*).





Figura 1.15. Mulcire

3. Igienizarea (Sanitation): Menținerea curățeniei în câmpuri și a echipamentelor ajută la prevenirea introducerii și răspândirii patogenilor.

Aceasta include îndepărtarea resturilor de plante infectate (Figura 1.16) și dezinfectarea uneltelor.



Figura 1.16. Îndepărtarea resturilor vegetale din seră



4. Soiuri rezistente (Figura 1.17): Cultivarea soiurilor de plante care sunt rezistente sau tolerante la anumiți patogeni transmiși prin sol poate reduce semnificativ incidența bolilor.



Figura 1.17. Sensibilitate diferită a soiurilor de grâu la fuzarioza spicelor (*Fusarium* head blight)

5. Îmbunătățirea sănătății solului (Soil Health Improvement): Îmbunătățirea sănătății solului prin adăugarea de materie organică, compost și microorganisme benefice poate promova un ecosistem al solului echilibrat, care suprimă patogenii (Figura 1.18).

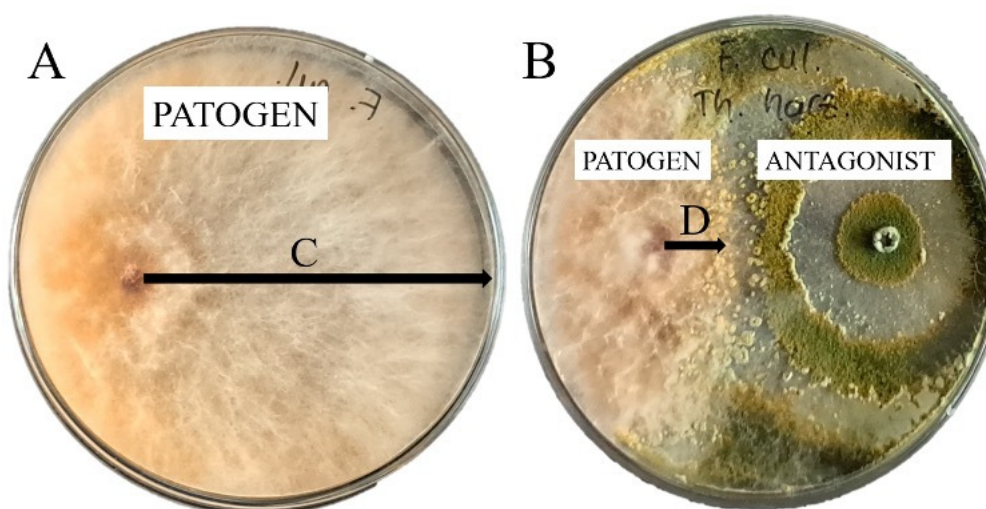


Figura 1.18. Influența lui *Trichoderma asperellum* asupra fungilor patogeni





6. Practici corespunzătoare de irigare (Figura 1.19): Evitarea irigării excesive și asigurarea unui drenaj bun pot ajuta la prevenirea condițiilor care favorizează dezvoltarea bolilor transmise prin sol.



Figura 1.19. Irigarea tutunului

### Măsuri mecanice

Câteva metode comune includ:

1. Tăierea, smulgerea și îndepărtarea plantelor bolnave din câmpuri (Figura 1.20), plantații, livezi etc., sau a părților de plante, astfel încât acestea să nu devină o sursă de infecție pentru plantele sănătoase.



Figura 1.20. Îndepărtarea părților de planta bolnave



2. Distrugerea organelor de plante în care parazitul iernează: de exemplu, din livezi se îndepărtează toate frunzele infectate după încheierea sezonului de vegetație și se îngroapă sau se ard (Figura 1.21).



Figura 1.21. Eliminarea plantelor bolnave

Formulele chimice pot fi aplicate în sol sub formă de fumiganți sau spray-uri foliare pentru a reduce apariția, răspândirea și dezvoltarea bolilor atât în plante, cât și în sol. Deși aceste formule sunt eficiente în prevenirea pierderilor semnificative și a apariției focarelor de boli în culturi, ele prezintă, de asemenea, mai multe dezavantaje. Acestea includ ecotoxicitatea, bioacumularea, efectele negative asupra plantelor și animalelor care nu sunt ținte, precum și riscuri potențiale pentru sănătatea umană (Del Martínez-Diz et al., 2021).

Aplicarea pesticidelor chimice a contribuit la creșterea numărului de patogeni rezistenți, ceea ce, la rândul său, a redus eficiența multor metode de control chimic.

Solul poate fi, de asemenea, tratat într-un mod prietenos cu mediul, cum ar fi prin abur încălzit, solarizare și biofumigare.

Tratamentul solului cu abur încălzit este o metodă eficientă pentru gestionarea patogenilor plantelor în mediile agricole.



Această tehnică implică aplicarea aburului în sol, ceea ce crește temperatura suficient de mult pentru a distruge microorganismele dăunătoare, inclusiv bacteriile, ciupercile și nematozii care pot afecta negativ sănătatea plantelor (Luvisi et al., 2015).

Prin utilizarea acestei metode, incidența bolilor transmise prin sol poate fi redusă, sănătatea solului îmbunătățită, iar producțiile agricole sporite.

Este o alternativă sustenabilă la tratamentele chimice, deoarece minimizează riscul reziduurilor chimice și promovează un ecosistem mai sănătos.

Aburirea solului (Soil steaming) implică transferul de energie de la combustibilul ars prin intermediul vaporilor de apă, pentru a ridica temperatura solului sau a substratului la niveluri potrivite pentru pasteurizare sau sterilizare.

La presiune scăzută, temperaturile aburului depășesc 100°C (212°F), iar atunci când aburul se condensează înapoi în apă, eliberează o cantitate semnificativă de energie, încălzind eficient solul în timp ce menține un conținut minim de umiditate.

Pasteurizarea solului are loc la temperaturi cuprinse între 71°C și 83°C, în timp ce sterilizarea este obținută la punctul de fierbere al apei (100°C).

În practicile agricole, aburirea solului este considerată în principal o metodă de pasteurizare, recomandările privind temperatura sugerând 71°C timp de 30 de minute pentru a elimina majoritatea ciupercilor patogene, bacteriilor, insectelor și nematozilor, și 83°C timp de 30 de minute pentru a eradica semințele de buruieni rezistente.

Totuși, este necesar un timp suficient și o cantitate adecvată de energie pentru a atinge aceste temperaturi la adâncimea specificată a solului (Ramón, 2020).

Sterilizarea cu abur elimină eficient multe organisme din sol; totuși, anumite grupuri de organisme au fost capabile să supraviețuiască și să se reproducă.

În plus, această metodă a dus la o creștere a nivelurilor de fosfor și a pH-ului solului, în timp ce nivelurile de potasiu au scăzut după tratamentul inițial de sterilizare. În ciuda acestor modificări, sterilizarea cu abur rămâne o alternativă rapidă și rentabilă la alte metode de sterilizare, în special atunci când sunt necesare cantități mari de substrat de sol (Dietrich et al., 2020).





## Solarizarea solului

Solarizarea solului este o practică agricolă ecologică utilizată pentru a gestiona patogenii plantelor transmiși prin sol (Elmore și Katan, 1998).

Această tehnică implică acoperirea solului umed cu folie de plastic transparentă pentru câteva săptămâni, în timpul perioadelor calde (Figura 1.22), ceea ce determină creșterea temperaturii solului până la niveluri care pot distruge sau suprima diverși patogeni, dăunători și semințe de buruieni.

Cercetările au arătat că solarizarea solului poate reduce semnificativ populațiile de patogeni precum *Fusarium* (Bottomley et al., 2024), *Pythium* și *Rhizoctonia*, printre alții.

Eficiența acestei metode este influențată de factori precum umiditatea solului, temperatura și durata solarizării. În anumite perioade ale anului (în special vara), solul este acoperit cu folie transparentă de polietilenă pentru a încălzi straturile de suprafață ale solului până la temperaturi ridicate. Pentru o încălzire maximă a solului, folia trebuie să fie cât mai aproape de suprafață, ceea ce înseamnă că solul trebuie să fie curățat de resturi, reziduuri vegetale și bulgări mari de pământ care ar putea ridica folia de la sol și ar putea duce la deteriorarea acesteia. Pentru o solarizare reușită, solul trebuie să fie bine pregătit, afânat până la o adâncime de 30–40 cm și udat abundant. Solul umed conduce mai bine căldura, ceea ce face solarizarea mai eficientă.



Figura 1.22. Solarizarea solului





Biofumigarea este o practică agricolă prietenoasă cu mediul care implică utilizarea anumitor plante, în special a celor din familia *Brassicaceae* (inclusiv varza, conopida, broccoli, varza creată și diferite tipuri de muștar), pentru a suprima patogenii și dăunătorii transmiși prin sol (Ziedan, 2022). Această metodă valorifică compușii naturali eliberați de aceste plante, cum ar fi glucozinolații, care pot fi transformați în substanțe bioactive cu proprietăți antimicrobiene atunci când materialul vegetal este încorporat în sol.

Procesul implică, de obicei, cultivarea unor culturi biofumigante specifice, precum muștarul sau ridichea, și apoi încorporarea acestora în sol în timp ce sunt încă verzi sau la scurt timp după înflorire. Această încorporare eliberează compuși volatili care pot inhiba creșterea diferiților patogeni din sol, inclusiv ciuperci, bacterii și nematozi, îmbunătățind astfel sănătatea solului și producțiile agricole.

Materialele alternative pentru biofumigare au arătat că gunoiul de grajd animal, care poate produce amoniac, poate fi de asemenea utilizat ca material biofumigant pentru a preveni bolile transmise prin sol (Zhang et al., 2020).

Controlul biologic reprezintă o strategie eficientă pentru gestionarea patogenilor transmiși prin sol. La bază, controlul biologic implică utilizarea organismelor vii pentru a viza anumite boli sau dăunători ai plantelor. Mecanismele principale prin care agenții de control biologic (BCAs) acționează pentru a reduce patogenii solului includ antibioza, rezistența sistemică indusă, parazitismul (în special micoparazitismul), antagonismul, competiția pentru nutrienți și spațiu, precum și stimularea creșterii plantelor prin mijloace indirecte. Majoritatea biofungicidelor comerciale se bazează pe mecanisme multiple de acțiune (Figura 1.23).

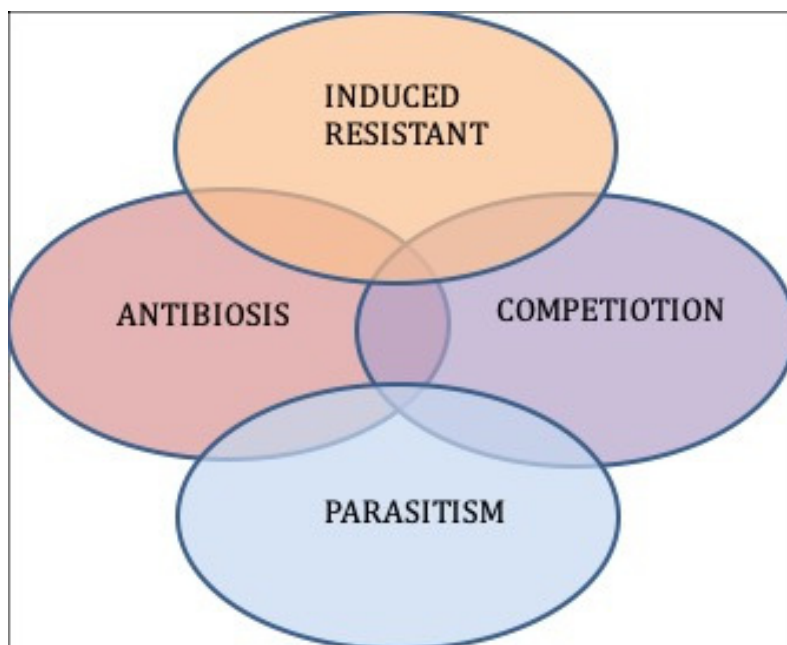


Figura 1.23. Mecanismele acțiunii BCA

Eficiența agenților de control biologic (BCAs) în testele de câmp este influențată semnificativ de diverși factori ecologici, inclusiv de starea fiziologică și genetică a gazdei, precum și de condițiile climatologice. Aceste variabile contribuie la variabilitatea impactului BCAs, motiv pentru care aplicarea lor este predominant limitată la mediile de seră. În serie, condițiile de mediu pot fi monitorizate și controlate atent, permițând obținerea unor rezultate mai constante (Del Martínez-Diz et al., 2021).

Controlul biologic depinde de diferitele interacțiuni agonistice și antagoniste dintre plante și microorganismele care trăiesc în sol. Microorganismele benefice din sol pot suprima patogenii plantelor prin două mecanisme principale: acțiuni directe și indirecte.

În mod direct, acestea sintetizează metaboliți care sunt antagonici față de patogeni, cum ar fi antibioticele, compușii organici și toxinele. În mod indirect, ele întăresc mecanismele de apărare ale plantei gazdă și inhibă creșterea patogenilor, contribuind astfel la sănătatea generală și rezistența plantei.

În biofungicidele comerciale, dintre care există astăzi mai mult de 100 la nivel mondial, cele mai frecvent utilizate ciuperci antagoniste aparțin genurilor *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Gliocladium*, *Coniothyrium* și *Pythium*, precum și bacteriile antagoniste din genurile *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* și *Bacillus*.



Valoarea pieței europene a biopesticidelor a crescut cu aproximativ 31,2% în perioada istorică (2017–2022). Se preconizează că valoarea pieței va crește cu aproximativ 77,9% și va atinge 3,20 miliarde USD până la sfârșitul anului 2029. (<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/european-biopesticides-market-industry>)

Unul dintre cele mai importante și mai utilizate genuri de ciuperci în controlul biologic al patogenilor este genul *Trichoderma* (Figura 1.24). *Trichoderma* utilizează antagonismul direct și competiția, în special în cadrul rizosferei, pentru a influența compoziția și interacțiunile microorganismelor înconjurătoare. Atunci când colonizează plantele, fie pe rădăcini, fie ca endofit, *Trichoderma* a dezvoltat capacitatea de a comunica cu planta gazdă, oferind o gamă largă de beneficii complexe (Woo et al., 2023).

Astăzi există aproximativ 20 de specii de *Trichoderma* pe piața biocontrolului. Dintre speciile înregistrate se numără *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* și *Trichoderma asperellum* (Sidhu, CABI).



Figura 1.24. Comparație între protecția chimică (stânga) și cea biologică (dreapta) a răsadurilor de tomate împotriva *Rhizoctonia solani* și *Pythium debaryanum*





Speciile de *Trichoderma* sunt abile în a se stabili pe rizoplan, în rizosferă și în interiorul rădăcinilor plantelor. Ele generează diverși metaboliți care posedă proprietăți antimicrobiene, cum ar fi enzimele care descompun pereții celulari, antibioticele, precum și compuși volatili și nevolatili. Produc substanțe biostimulatoare, precum fitohormonii și fitoregulatorii. *Trichoderma*, în special, este recunoscută pentru capacitatea sa puternică de a absorbi nutrienți din rădăcini și de a interacționa nu doar cu microorganismele dăunătoare, ci și cu microbiomul general al solului.

Compușii naturali bioactivi pot fi, de asemenea, utilizați în timpul plantării, deoarece aceștia stimulează creșterea plantelor și, prin urmare, controlează bolile plantelor (Pandit et al., 2022). Acești compuși aparțin, de obicei, uneia dintre cele trei mari clase chimice: terpenoide, fenolici și alcaloizi. Unele dintre speciile de plante utilizate pentru extragerea compușilor bioactivi sunt: *Allium* spp., *Citrus* spp., *Melaleuca alternifolia* L., algele brune (*Ascophyllum nodosum*), algele brune (*Laminaria digitata*), algele marine (*Spatoglossum variable*, *Melanothamnus afaqhusainii*, *Halimeda tuna*), algele roșii (*Chondrus crispus*, *Gigartina stellata*), algele marine, crustaceele marine (*Crustacea*) (Jamiołkowska, 2020).

Procedura de înregistrare a produselor de protecție a plantelor și managementul riscului

Produsele de protecție a plantelor sunt plasate pe piață pe baza Deciziei de înregistrare sau aprobare emisă de Ministerul Agriculturii al Republicii Croația. Prin înregistrarea unui produs de protecție a plantelor, se urmărește reducerea riscului pentru sănătatea umană, animală și a mediului, precum și încurajarea măsurilor integrate și alternative pentru controlul organismelor dăunătoare.

Procedura de înregistrare a produselor de protecție a plantelor în Republica Croația este aceeași cu procedura desfășurată în celelalte state membre ale Uniunii Europene. Pentru reducerea sarcinilor administrative, a fost introdus un sistem de înregistrare zonal. În acest mod, se aplică principii unice de luare a deciziilor și numeroase ghiduri și standarde ale Uniunii Europene și ale organizațiilor internaționale. Documentația produselor de protecție a plantelor trebuie elaborată conform ghidurilor, standardelor și protocoalelor corespunzătoare (GLP, GEP, OECD, FAO, EPPO și altele). Evaluarea



riscului și documentația analizată reprezintă baza științifică și profesională pentru luarea deciziilor privind înregistrarea sau aprobarea individuală a produselor de protecție a plantelor.

Regulamentul (CE) nr. 1107/2009 privind introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor a fost publicat la 24 noiembrie 2009, iar aplicarea sa a început la 14 iunie 2011, cu multe perioade de tranziție. Regulamentul stabilește noi standarde, având ca scop creșterea nivelului de siguranță pentru sănătatea oamenilor, animalelor și mediului.

Toate produsele de protecție a plantelor înregistrate în Croația pot fi găsite în motorul de căutare pentru produse înregistrate de pe site-ul (baza de date FIS) al Ministerului Agriculturii.

În Republica Croația, trei instituții participă la procesul de înregistrare a produselor de protecție a plantelor (Figura 1.25):

- Ministerul Agriculturii;
- Centrul pentru Protecția Plantelor (Agenția Croată pentru Agricultură și Alimentație HAPIH);
- Institutul de Cercetări Medicale și Medicină a Muncii (IMI).

Ministerul Agriculturii este coordonatorul principal al tuturor activităților legate de înregistrarea produselor de protecție a plantelor. Ministerul primește cererile de înregistrare, verifică completitudinea documentației și, dacă este necesar, solicită documentație suplimentară de la solicitant. Cererile și documentația aferentă sunt depuse în trei exemplare identice.

După ce se stabilește completitudinea documentației depuse, două copii identice ale acestora sunt transmise instituțiilor autorizate pentru evaluarea documentației și analiza riscului. În caz de necesitate, instituțiile autorizate pot solicita transmiterea de documente suplimentare, anumite modificări ale cererilor, explicații etc. Comunicarea cu solicitantul, în toate etapele procesului de înregistrare a produselor de protecție a plantelor, are loc prin intermediul coordonatorului de la Ministerul Agriculturii.



După ce instituțiile autorizate finalizează evaluarea documentației și analiza riscului, coordonatorul transmite o propunere de înregistrare către Ministerul Agriculturii. Pe baza propunerii instituției autorizate, Ministerul Agriculturii emite decizia de înregistrare a produsului de protecție a plantelor.

Centrul pentru Protecția Plantelor efectuează o parte din evaluarea riscului și a documentației. La solicitarea Ministerului Agriculturii, acesta pregătește propuneri de înregistrare, propuneri de eliberare a unor licențe pentru produse de protecție a plantelor, propuneri pentru prelungirea înregistrărilor, precum și avize de specialitate în domeniul produselor de protecție a plantelor.

Institutul de Cercetări Medicale și Medicină a Muncii (IMI) efectuează evaluarea documentației și analiza riscului în domeniile toxicologiei mamiferelor și expunerii utilizatorilor, lucrătorilor și altor persoane. La solicitarea Ministerului, acesta emite, de asemenea, propuneri pentru înregistrarea produselor de protecție a plantelor, propuneri pentru emiterea anumitor autorizații, propuneri pentru prelungirea înregistrărilor, precum și avize toxicologice de specialitate în domeniul său de activitate.

Evaluatorii din instituțiile autorizate (ZZB și IMI) (coordonatori).

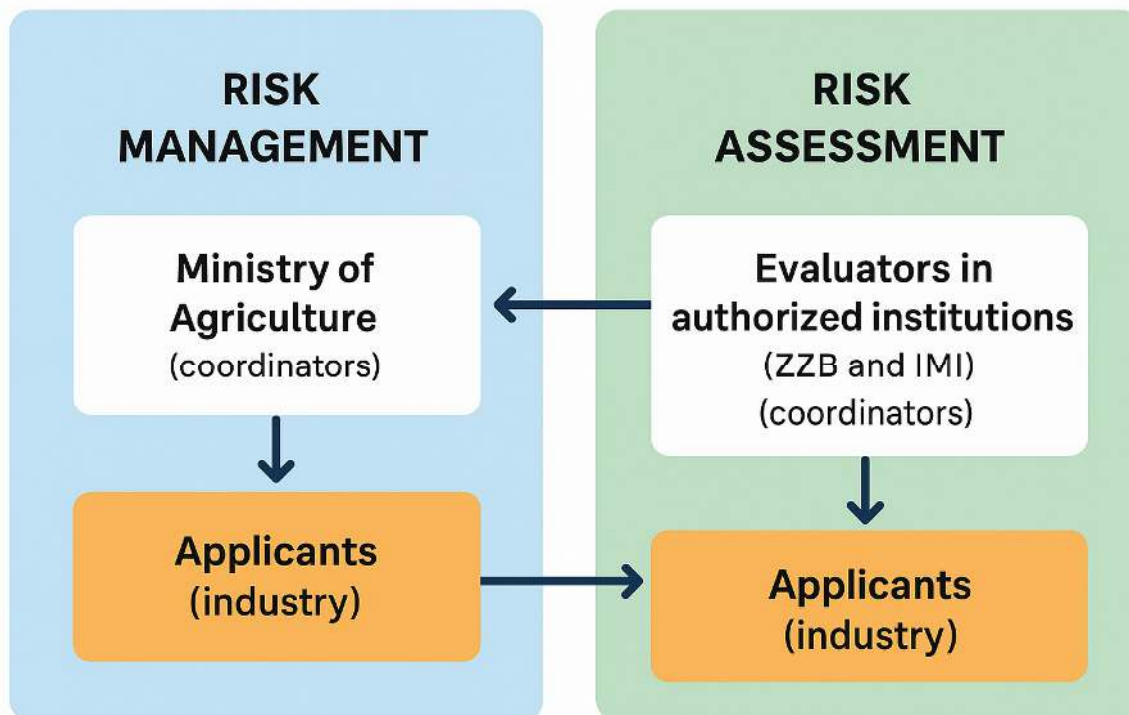


Figura 1.25 Reprezentare schematică a procedurii de înregistrare a produselor de protecție a plantelor în Republica Croația

Regulamentul (CE) nr. 1107/2009 aduce numeroase inovații, dintre care cele mai importante se referă la criterii suplimentare pentru evaluarea substanțelor active, înregistrarea zonală a produselor de protecție a plantelor și comerțul paralel.

Introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor în Republica Croația este reglementată prin Legea privind implementarea Regulamentului (CE) nr. 1107/2009. Această lege este în vigoare din 1 iulie 2013 și permite implementarea directă a Regulamentului (CE) nr. 1107/2009 în Republica Croația.

Pe baza Regulamentului (CE) nr. 1107/2009, Comisia Europeană a adoptat numeroase regulamente de punere în aplicare care sunt direct aplicabile în statele membre ale Uniunii Europene și care reglementează în detaliu introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor, aprobarea substanțelor active, a substanțelor de protecție (safeners), sinergiștilor, coformulanților, excipienților, substanțelor cu risc redus, substanțelor de bază, sistemul de înregistrare zonal, candidații pentru înlocuire, perturbatorii hormonal (perturbatori endocriini), evaluarea comparativă a riscurilor,





comerțul paralel, extinderea înregistrării pentru culturi și scopuri minore, introducerea pe piață a semințelor tratate, protecția datelor etc.

La nivelul Uniunii Europene, odată cu adoptarea Directivei 91/414/CEE în 1991, au fost stabilite principii unice pentru evaluarea substanțelor active și a agenților, precum și pentru evaluarea riscurilor privind sănătatea umană și animală și protecția mediului. Implementarea acestei Directive în Uniunea Europeană a început în anul 1993.

Înregistrarea în Republica Croația și în restul Uniunii Europene

Domeniul produselor de protecție a plantelor și al reziduurilor de pesticide în alimente, la nivelul Uniunii Europene, este reglementat prin Regulamente. În iunie 2013 au fost adoptate următoarele legi care permit aplicarea directă a Regulamentului: Legea privind implementarea Regulamentului (CE) nr. 1107/2009 privind introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor, Legea privind implementarea Regulamentului (CE) nr. 396/2005 privind nivelurile maxime ale reziduurilor de pesticide din și de pe produsele alimentare și furajele de origine vegetală și animală.

Regulamentul (CE) nr. 1107/2009 a stabilit un sistem de înregistrare zonală pentru produsele de protecție a plantelor.

Statele membre sunt împărțite în trei zone administrative de înregistrare (Figura 1.26):

- Zona A – zona nordică, care include Danemarca, Suedia, Finlanda, Lituania, Letonia și Estonia
- Zona B – zona centrală, care include Regatul Unit, Irlanda, Țările de Jos, Germania, Belgia, Luxemburg, Austria, Slovenia, Slovacia, Republica Cehă, Polonia, Ungaria, România
- Zona C – zona sudică, care include Franța, Spania, Grecia, Italia, Portugalia, Bulgaria, Malta, Cipru și Croația

Zonele administrative au fost stabilite pentru a evita dublarea activităților.

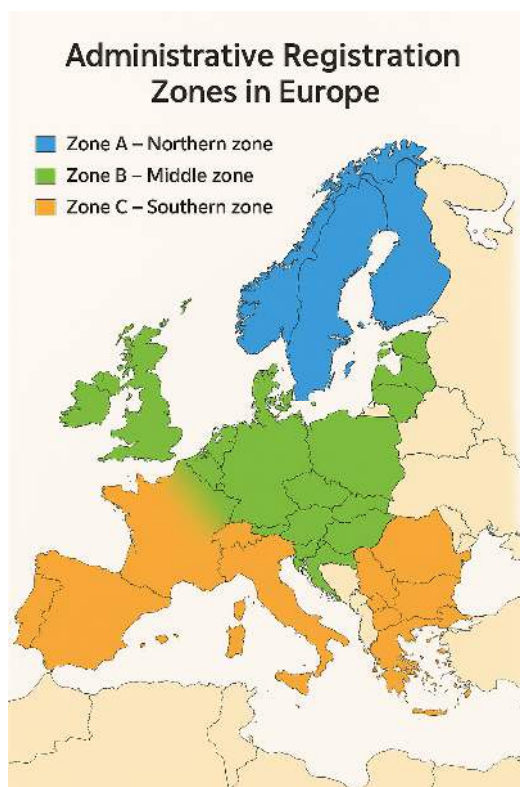


Figura 1.26 Zone administrative de înregistrare în Europa

Conform Directivei 91/414/CEE, fiecare stat membru al Uniunii Europene a realizat o evaluare a documentației și o analiză a riscului pentru a aproba înregistrarea unui produs de protecție a plantelor pe teritoriul său, iar în sistemul de înregistrare zonală, o evaluare a riscului este realizată de un stat membru din aceeași zonă de înregistrare sau de un stat membru din oricare zonă de înregistrare în cadrul procedurii de înregistrare interzonală. Pentru a reduce sarcina administrativă pentru industrie și pentru autoritățile competente ale statelor membre și pentru a asigura o mai bună uniformitate și disponibilitate a produselor de protecție a plantelor, înregistrările produselor de protecție a plantelor aprobate de un stat membru ar trebui să fie acceptate în alte state membre, dacă acestea prezintă condiții agricole, de mediu și climatice comparabile.

Din motivele menționate mai sus, statele membre sunt împărțite în zone cu condiții agricole, de mediu și climatice comparabile, pentru a facilita recunoașterea reciprocă a evaluărilor riscurilor și a înregistrărilor aprobate. Cu toate acestea, caracteristicile climatului diferă și la nivelul țărilor individuale și de aceea este necesar să se țină cont de aceste fapte la înregistrarea produselor de protecție a plantelor.



Clima reprezintă starea medie a atmosferei (învelișul gazos al Pământului) pe o anumită zonă observată pe o perioadă lungă (25 până la 35 de ani). Clima este influențată de numeroși factori, cum ar fi latitudinea, curenții marini, dispunerea uscatului și a mării, relieful etc. Oceanul Atlantic este principala sursă de umiditate pentru Europa. Vânturile de vest aduc umiditate. Cantitatea de precipitații scade odată cu distanța față de Oceanul Atlantic. În zonele mai apropiate de mare, majoritatea precipitațiilor cad iarna, iar în zonele mai îndepărtate, vara.

În Europa predomină climatele temperate: climatul moderat cald, moderat continental și mediteranean. Climatele polare și de stepă sunt mai puțin reprezentate. Clima are o influență inestimabilă asupra distribuției speciilor de plante și animale, asupra posibilității de cultivare a anumitor specii de plante în spațiu deschis, asupra distribuției dăunătorilor, patogenilor plantelor și buruienilor. Acoperirea vegetală (vegetația) depinde de climă, dar influența omului este, de asemenea, importantă. Vegetația originală este rară. Omul a distrus suprafețe mari de vegetație naturală prin construirea de așezări și drumuri și prin transformarea pădurilor în pășuni și terenuri arabile.

O excepție de la sistemul de înregistrare zonală o reprezintă acele înregistrări ale căror utilizări nu sunt legate de condițiile climatice și alte condiții esențiale de utilizare. Astfel de utilizări sunt tratamentul semințelor, utilizarea în spații protejate, depozite, silozuri și altele, pentru care a fost stabilit un sistem de înregistrare interzonală.

Condiția prealabilă pentru depunerea unei cereri de înregistrare este ca substanța activă conținută în produsul de protecție a plantelor să fie aprobată la nivelul Uniunii Europene.

Solicitantul/compania care depune cererea de înregistrare selectează unul dintre statele membre din zona de înregistrare ca stat membru raportor zonal (zRMS), care efectuează evaluarea documentației și analiza riscului pentru întreaga zonă de înregistrare. Alte țări din cadrul zonei de înregistrare unde cererea de înregistrare a fost depusă în același timp trebuie să se abțină de la evaluarea documentației și analiza riscului și să aștepte ca zRMS să finalizeze evaluarea documentației și analiza riscului. Procesul de evaluare a documentației și analiză a riscului durează 12 luni de la finalizarea documentației.



După ce statul raportor zonal (zRMS) emite o înregistrare pentru un produs de protecție a plantelor pe teritoriul său, celelalte state membre în care compania a depus cererea de înregistrare (state membre implicate – cMS) sunt obligate să emită o înregistrare în termen de 120 de zile. La luarea deciziilor privind condițiile de aprobare, cMS poate lua în considerare specificitățile și cerințele naționale (Anexe Naționale).

În cazul în care toate țările fac parte dintr-o singură zonă (utilizare în depozite și altele asemenea), compania alege o țară ca raportor interzonal (interzonal Rapporteur Member State – izRMS) pentru întreaga Uniune Europeană și depune o cerere în toate statele membre în care intenționează să înregistreze produsul de protecție a plantelor. După ce izRMS emite o înregistrare pe teritoriul său, fiecare cMS, indiferent de zona de înregistrare, este obligat să emită o înregistrare pe teritoriul său în termen de 120 de zile.

Un stat membru al Uniunii Europene poate refuza să emită o decizie privind înregistrarea unui anumit produs de protecție a plantelor pentru care zRMS sau izRMS a efectuat evaluarea documentației și analiza riscului. De asemenea, un stat membru poate refuza recunoașterea reciprocă (MR) a unei înregistrări dintr-un alt stat membru. În ambele cazuri, este obligatoriu ca solicitantul și Comisia Europeană să fie informați despre decizie și să fie prezentată o justificare profesională și științifică a acesteia.

Solicitantul poate ulterior să depună o cerere de recunoaștere reciprocă a înregistrării într-un stat membru care nu a avut calitatea de cMS la momentul depunerii cererii pentru înregistrarea zonală. Acest stat membru va recunoaște înregistrarea și va emite o Decizie de Înregistrare în termen de 120 de zile sau va respinge cererea de recunoaștere reciprocă.

Regulamentul permite, de asemenea, recunoașterea înregistrărilor dintr-o altă zonă de înregistrare, dacă condițiile climatice, de mediu, agricole și alte condiții de utilizare sunt similare. Totuși, pentru a evita „efectul domino”, recunoașterea înregistrărilor deja recunoscute (recunoașteri) nu este permisă.

Pentru evaluarea documentației produselor de protecție a plantelor, în scopul înregistrării sau aprobării acestora în Republica Croația, se efectuează o analiză a riscului și o evaluare a documentației în domeniile identității, proprietăților fizico-





chimice, metodelor analitice, eficacității produsului, toxicologiei, expunerii utilizatorilor, reziduurilor produsului, comportamentului în mediu și ecotoxicologiei. În acest proces se aplică principii unice de luare a deciziilor, precum și numeroase ghiduri și standarde ale Uniunii Europene și ale organizațiilor internaționale. Introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor în Republica Croația este reglementată prin Regulamente în conformitate cu regulile și legile țării.

Pentru înregistrarea produsului de protecție a plantelor, o parte din documentația depusă trebuie să includă Raportul de Înregistrare din statul membru (Registration Report), care constă din trei părți:

- a) evaluarea națională a statului membru în funcție de care se solicită recunoașterea (Partea A);
- b) rezumatul evaluării statului membru în funcție de care se solicită recunoașterea (Partea B);
- c) date confidențiale (Partea C).

Tipuri de aprobare conform Legii privind implementarea Regulamentului 1107/2009

Aprobări temporare – introducerea pe piață a produselor care conțin o substanță activă care nu a fost încă aprobată la nivelul UE, în conformitate cu art. 30 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Se depune documentația completă pentru substanța activă și agent. Procedura este în curs de abandonare și a fost efectuată doar până la 14 iunie 2016.

Aprobări zonale atunci când Republica Croația este zRMS – Republica Croația, în zona administrativă sudică, are rolul de stat raportor (zonal Rapporteur Member State – zRMS), care efectuează evaluarea documentației și analiza riscului pentru întreaga zonă de înregistrare. Statele membre implicate (cMS), în care cererea de înregistrare este depusă, sunt obligate, după comentarea și armonizarea evaluării și după ce zRMS emite o decizie de înregistrare, să aprobe produsul în țările lor (statele membre pot avea cerințe naționale sau pot refuza emiterea unei decizii de înregistrare, dar sunt obligate să informeze Comisia Europeană despre aceasta).



Aprobări interzonale atunci când Republica Croația este izRMS – toate statele membre reprezintă o singură zonă pentru aplicarea produselor în spații protejate (sere, solarii), aplicarea după recoltare sau aplicarea în spații de depozitare goale sau destinate stocării plantelor ori produselor vegetale și pentru tratamentul semințelor. În Uniunea Europeană, Republica Croația are rolul de stat raportor interzonal (interzonal Rapporteur Member State – izRMS), care evaluează documentația și analizează riscurile pentru întreaga Uniune Europeană. Statele membre implicate (cMS), în care cererea de înregistrare este depusă, sunt obligate, după comentarea și armonizarea evaluării și după ce izRMS emite o decizie de înregistrare, să aprobe produsul în țările lor (statele membre pot avea cerințe naționale sau pot refuza emiterea unei decizii de înregistrare, dar sunt obligate să informeze Comisia Europeană despre aceasta).

Aprobări zonale atunci când Republica Croația este cMS – Republica Croația nu evaluează documentația și analiza riscului, dar are dreptul să comenteze evaluarea realizată de zRMS sau izRMS. După finalizarea evaluării zonale și după ce zRMS sau izRMS emite o decizie de înregistrare, cMS are un termen de 120 de zile pentru a emite o decizie de înregistrare a produsului (Republica Croația poate refuza emiterea unei decizii de înregistrare, dar este obligată să informeze Comisia Europeană despre aceasta).

Dacă substanța activă, substanța de protecție (safener) sau sinergistul din produs provin dintr-o altă sursă sau din aceeași sursă, dar cu o modificare a procesului de producție și/sau a locului de producție, este necesară o evaluare a echivalenței, în conformitate cu art. 38 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Evaluarea echivalenței se realizează la nivelul Uniunii Europene și este, de obicei, efectuată de țara care a fost RMS pentru substanța activă, dar nu neapărat. În evaluarea echivalenței se analizează datele privind substanța activă.

Recunoașterea reciprocă a aprobării – recunoașterea aprobării dintr-un alt stat membru al UE, conform articolelor 40, 41 și 42 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Procedura de înregistrare sau aprobare a produsului în țara în funcție de care se solicită recunoașterea trebuie să fie realizată în conformitate cu Regulamentul 1107/2009 sau Directiva 91/414/CEE. Dacă produsul nu a trecut prin procedura zonală, adică este înregistrat într-un stat membru conform Directivei 91/414/CEE,



solicitantul trebuie să prezinte detalii privind evaluarea efectuată în acea țară sub forma unei evaluări naționale detaliate sau a evaluării părții B a RR sau a evaluării documentului MIII. În cazurile în care nu există o evaluare națională în statul membru în funcție de care se face recunoașterea, evaluarea documentației și analiza riscului se realizează pe baza etichetei și licenței din acea țară și a documentului MIII depus din toate domeniile. Este important de subliniat că, în astfel de cazuri, perioada de 120 de zile pentru emiterea aprobării nu se aplică.

Extinderea aprobării – se realizează zonal conform articolului 43 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009 pentru produs, la cererea deținătorului aprobării, dacă sunt îndeplinite condițiile din articolul 29 al Regulamentului (CE) nr. 1107/2009, în termen de 3 luni după extinderea aprobării pentru substanța activă, safenerul sau sinergistul care conține acel produs.

Retragerea sau modificarea aprobării – statele membre pot, în orice moment, revizui aprobarea și pot retrage sau modifica aprobarea conform articolului 44 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Articolul 45 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009 permite retragerea sau modificarea aprobării la cererea deținătorului aprobării, iar modificările pot fi aprobate doar dacă se stabilește că cerințele din articolul 29 au fost îndeplinite.

Introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor cu risc scăzut – conform articolului 47 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, atunci când toate substanțele active conținute într-un produs sunt substanțe active cu risc scăzut, conform articolului 22, acel produs este aprobat ca produs cu risc scăzut, dacă nu sunt necesare măsuri speciale de reducere a riscului pe baza evaluării riscurilor. Cerințele pentru documentația necesară sunt mai reduse, conform articolului 47, alineatele 1 (a) până la (e).

Evaluarea comparativă a produselor de protecție a plantelor care conțin candidați pentru înlocuire – se realizează pentru produsele care conțin substanțe active identificate ca fiind candidați pentru înlocuire. Deși evaluarea comparativă se realizează la nivel național, aceasta nu este încă efectuată în Republica Croația, întrucât sunt în curs de elaborare ghidurile pentru Republica Croația.



Extinderea aprobării pentru scopuri minore – conform articolului 51 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, deținătorul aprobării, organisme oficiale sau științifice care desfășoară activități agricole, asociațiile profesionale agricole sau utilizatorii profesioniști pot solicita ca aprobarea pentru produsul deja aprobat în Republica Croația să fie extinsă pentru utilizări minore care nu sunt încă acoperite de acea aprobare. Extinderea poate fi aprobată sub forma unei modificări a unei aprobări deja existente sau a unei aprobări separate, în conformitate cu procedura administrativă a Republicii Croația. Este posibilă extinderea aprobării pentru utilizări minore prin recunoaștere reciprocă, cu condiția ca produsul de protecție a plantelor în cauză să fie autorizat în acel stat membru. Statele membre vor autoriza astfel de utilizări în conformitate cu dispozițiile articolului 41, cu condiția ca aceste utilizări să fie considerate minore și în statele membre în care se depune cererea.

Aprobarea pentru comerțul paralel – conform articolului 52 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, se emite pentru importul și introducerea pe piață a unui produs în Republica Croația, dacă acest produs este identic în compoziție cu un produs de referință deja aprobat în Republica Croația. Evaluarea identității produsului se efectuează pe baza datelor privind compoziția produsului și a altor date obținute de la administrația competentă din țara UE din care produsul este importat în Republica Croația.

Permisul în situații de urgență – conform articolului 53 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, poate fi aprobat, pentru o perioadă maximă de 120 de zile, pentru introducerea pe piață a produselor de protecție a plantelor destinate unei utilizări limitate și controlate, dacă astfel de măsuri se dovedesc necesare din cauza unui pericol care nu poate fi controlat în alt mod satisfăcător. Este necesar ca, Comisia Europeană să fie informată despre acest lucru.

Licența pentru cercetare și dezvoltare – conform articolului 54 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, se emite în scopuri de cercetare sau dezvoltare, în care un produs neaprobat este eliberat în mediu sau un produs neaprobat este utilizat, dacă statul membru pe al cărui teritoriu se vor desfășura cercetările sau experimentele a evaluat datele disponibile. Cantitățile și suprafețele de tratament pot fi limitate, iar condiții





suplimentare pot fi impuse pentru a preveni efectele adverse asupra sănătății umane și animale sau efectele inacceptabile asupra mediului. Se emite doar la nivel național.

Introducerea pe piață și utilizarea mijloacelor auxiliare – conform articolului 58 din Regulamentul (CE) nr. 1107/2009, se realizează similar cu procedura de aprobare a produselor prin procedura zonală.

Evaluarea documentației și analiza riscului pe domenii

HAPIH – Centrul pentru Protecția Plantelor efectuează evaluarea documentației și analiza riscului în următoarele domenii:

- identitatea substanțelor active și a agenților de protecție a plantelor,
- metode analitice,
- eficacitatea produselor de protecție a plantelor,
- reziduurile de pesticide în alimente,
- comportamentul în mediu,
- ecotoxicologie,
- expunerea aplicatorilor, lucrătorilor și altor persoane prezente,
- coordonare tehnică, elaborarea rapoartelor și a avizelor de specialitate.

Organizația Europeană și Mediteraneană pentru Protecția Plantelor (EPPO) a împărțit zonele agroclimatice din Europa, zona mediteraneană și Eurasia. Aceste zone au fost create pentru schimbul internațional de date privind eficacitatea și fitotoxicitatea produselor de protecție a plantelor. Conform împărțirii EPPO, au fost stabilite 4 zone agroclimatice:

1. Zona mediteraneană,
2. Zona marină,
3. Zona nord-est,
4. Zona sud-est.



Zona mediteraneană include țări sau părți de țări situate în jurul Mării Mediterane, inclusiv Iordania, Macedonia și Portugalia.

Zona maritimă se află la nord de coasta de sud-vest a Franței, pe la Lyon până la granița sudică a Elveției și Austriei, la vest până la granița dintre Austria și Ungaria, mai departe la vest de granița dintre Republica Cehă și Slovacia, la vest de râul Oder (granița dintre Polonia și Germania). Această zonă include, de asemenea, întregul teritoriu al Irlandei, Suediei și Regatului Unit.

Zona nord-estică include țările și regiunile situate la est de râul Oder (granița dintre Polonia și Germania), la nord de granița dintre Republica Cehă și Polonia, la vest de granița dintre Polonia și Ucraina, la nord de granița dintre Ucraina și Belarus, Rusia la nord de latitudinea 50°.

Zona sud-estică include Bulgaria, Ungaria, Serbia, Moldova, România, Rusia la sud de latitudinea 50°, Ucraina, Slovacia, Slovenia, Croația, Bosnia și Herțegovina, Muntenegru și Turcia, cu excepția zonelor de coastă mediteraneene. Aceste zone indică faptul că au caracteristici climatice diferite față de zona în care sunt clasificate țările. În unele state membre, de ex. în Franța și Croația, aceste diferențe sunt deosebit de pronunțate. Datele de eficacitate dintr-o zonă pot fi considerate acceptabile într-o altă zonă dacă condițiile agricole, de mediu, climatice și alte condiții sunt comparabile (Manual pentru manipularea și aplicarea în siguranță a produselor de protecție a plantelor, Ministerul Agriculturii 2014).

Evaluarea documentației în domeniul reziduurilor de pesticide din alimente

Prin aplicarea agenților de protecție a plantelor (pesticide) pe plantele tratate, produsele de origine vegetală și/sau animală, rămân reziduuri de substanțe active și/sau metaboliți care pot avea un efect nociv asupra sănătății umane și animale. Respectarea dozelor prescrise pentru aplicare, a numărului și termenelor tratamentelor, respectarea perioadei de pauză și aplicarea doar pe culturile pentru care produsul de protecție a plantelor este aprobat va determina dacă reziduurile vor fi în conformitate cu cantitățile maxime admise de reziduuri de pesticide (MDK) sau dacă acestea se vor regăsi în alimente în concentrații nepermise care pot pune



potențial în pericol sănătatea consumatorilor, în special a grupurilor sensibile, precum copiii, femeile gravide, persoanele bolnave și vârstnicii.

Utilizarea produselor de protecție a plantelor duce la o posibilă expunere la reziduuri, directă și indirectă. Reziduurile pot rămâne după utilizarea SZB pe/în culturi și produse depozitate. Astfel de culturi/produse sunt utilizate direct pentru consumul uman sau servesc drept materie primă pentru alimente și băuturi. Expunerea prin apa potabilă poate apărea prin contactul cu apele de suprafață în timpul aplicării sau atunci când pesticidele (sau metaboliții lor) sunt spălate în apele subterane.

Indirect, reziduurile din culturile tratate destinate hranei animalelor pot duce la transferul reziduurilor în/pe produsele de origine animală care sunt, în final, utilizate pentru consumul uman (cum ar fi carnea, ouăle și laptele). Sunt necesare date privind reziduurile SZB (produse de protecție a plantelor) pentru a putea evalua „natura” și cantitatea acestora. Reziduurile pot apărea atunci când SZB este aplicat pe/în culturile agricole (destinate în totalitate sau parțial consumului); în culturile care (pot) fi administrate animalelor (reziduuri în produsele de origine animală); în culturile care urmează pe același teren după culturile tratate, prin transfer din sol (cultura următoare în rotația culturilor); în produsele alimentare stocate sau materiile prime pentru produse alimentare; în apa potabilă (prin devierea pesticidelor către cursuri de apă sau spălarea SZB în apele subterane).

Toate investigațiile privind reziduurile trebuie susținute de metode analitice validate și studii de stabilitate a reziduurilor pe durata depozitării.

Pe baza datelor „pachetului de reziduuri” privind reziduurile din alimentele de origine vegetală și animală și din produsele procesate (date privind cercetările metabolismului la plante și la animale domestice, cercetări asupra reziduurilor prin hrănirea animalelor domestice – model ANIMOD, cercetările necesare asupra reziduurilor efectuate în conformitate cu aplicarea propusă, cercetarea reziduurilor de pesticide în rotația culturilor, cercetări în timpul procesării produselor – stabilirea factorului de transfer, cercetări ale reziduurilor de substanțe active și/sau metaboliți în miere) se obțin datele privind reziduurile produsului și ale substanțelor active necesare pentru evaluarea în domeniul reziduurilor.



Documentația de evaluare în domeniul reziduurilor este realizată în conformitate cu ghidurile UE:

Documentația în domeniul reziduurilor de pesticide din/pe produsele tratate, alimente și furaje pentru animale este necesară pentru a putea evalua riscul pentru sănătatea oamenilor, din toate grupele de vârstă, prin ingestia reziduurilor de produse în alimente de origine vegetală și/sau animală.

Caracteristicile climatice și factorii meteorologici influențează, de asemenea, reziduurile de pesticide din produsele tratate și din sol. Aceeași cantitate de pesticid aplicată și același număr de tratamente pot conduce la concentrații diferite ale reziduurilor de pesticide din cauza diferențelor agroclimatice.

Unul dintre parametrii semnificativi care afectează comportamentul reziduurilor este diferența climatică dintre zonele de producție. Conform Directivei SANTE/2019/12752, Europa este împărțită în două zone în scopul evaluării reziduurilor după aplicarea produsului în spațiu deschis:

1. Zona nordică – Europa de Nord și Centrală, care include Suedia, Norvegia, Islanda, Finlanda, Danemarca, Regatul Unit, Irlanda, nordul Franței, Belgia, Țările de Jos, Luxemburg, Germania, Polonia, Republica Cehă, Slovacia, Austria, Ungaria, Elveția, Estonia, Letonia, Lituania, România și Slovenia
2. Zona sudică – Europa de Sud și zona mediteraneană, care include Spania, Portugalia, sudul Franței, Italia, Grecia, Malta, Croația, Serbia, Bosnia și Herțegovina, Macedonia, Muntenegru, Kosovo, Albania, Turcia, Bulgaria și Cipru.

Sistemul zonal de înregistrare a produselor de protecție a plantelor din domeniul reziduurilor este împărțit în două zone

- Europa de Nord și Centrală
- Europa de Sud și zona mediteraneană

Pentru utilizările în spații protejate (sere, solarii), precum și pentru utilizările după recoltare, se aplică o singură zonă. Aceasta înseamnă că, în scopul înregistrării





produselor de protecție a plantelor, studiile privind reziduurile de pesticide pot fi efectuate în orice zonă, deoarece condițiile sunt controlate.

#### Niveluri Maximale de Reziduuri (MRL)

Pentru a demonstra că aplicarea solicitată a produsului este în conformitate cu reglementările UE privind MRL, este necesar să se facă trimitere la evaluarea studiilor privind reziduurile la nivelul UE sau să se depună studii de cercetare a reziduurilor după aplicarea propusă. Studiile depuse ar trebui să arate că aplicarea propusă a produsului nu va conduce la depășirea valorii MRL. Calculul valorilor MRL se realizează în conformitate cu Ghidurile OECD pentru calculatorul MRL – în scopul armonizării calculului valorilor limită maxime ale reziduurilor (MRL) în cadrul Organizației pentru Cooperare și Dezvoltare Economică, OECD a dezvoltat calculatorul MRL (<https://www.epa.gov/pesticide-tolerances/oecd-maximum-residue-limit-calculator>).

Valorile MRL sunt prevăzute de Legea privind implementarea Regulamentului (CE) nr. 396/2005 privind nivelurile maxime ale reziduurilor de pesticide din și de pe produsele alimentare și furajele de origine vegetală și animală (Monitorul Oficial 80/13), care, pentru aplicarea propusă a produsului, este armonizată cu Regulamentul Comisiei Europene 396/2005 și modificările aferente.

Conform Regulamentului (CE) nr. 396/2005, nivelurile maxime ale reziduurilor (MRL) sunt nivelurile superioare de reziduuri de pesticide care sunt permise legal în sau pe alimente sau furaje, pe baza bunei practici agricole (GAP) și a celei mai scăzute expuneri necesare pentru a proteja consumatorii vulnerabili. Acestea sunt stabilite după o evaluare cuprinzătoare a proprietăților substanței active și a utilizării intenționate a pesticidului. Aceste limitări legale se aplică și alimentelor importate, stabilite ca „toleranțe la import” pentru a satisface nevoile comerțului internațional.

Înainte de stabilirea sau modificarea MRL-urilor (de ex., un solicitant cere autorizarea unui nou produs de protecție a plantelor), EFSA evaluează comportamentul reziduurilor de pesticide și posibilele riscuri pentru sănătate pentru consumatori din reziduurile din alimente. Dacă evaluarea riscului realizată de EFSA nu identifică riscuri inacceptabile pentru consumatori, se stabilesc MRL-uri aliniate la nivelul UE (Baza de



date UE privind MRL-urile pentru pesticide – EU Pesticide Database MRLs) și produsul de protecție a plantelor poate fi aprobat.

#### Evaluarea expunerii alimentare cronice și acute

Republica Croația nu are propriul model național de nutriție; evaluarea riscului în timpul înregistrării produsului se realizează folosind modelul „PRIMo” al EFSA (rev3.1) (Pesticide residue intake model <http://www.efsa.europa.eu/en/mrls/mrlteam.htm>).

La evaluarea riscului pentru om, din cauza expunerii la reziduurile de pesticide prin consumul de alimente, datele privind reziduurile produselor de protecție a plantelor sunt comparate cu valorile de referință toxicologice ale dozei zilnice admisibile (ADI) și dozei de referință acute (ARfD). Din punctul de vedere al siguranței alimentare, un anumit tip de aliment este considerat sigur pentru consumatori dacă aportul estimat al substanței dăunătoare nu depășește valoarea ADI sau ARfD.

Evaluarea riscului pentru consumatori este realizată prin modelul „PRIMo” rev3.1 al EFSA (Eng. Pesticide Residue Intake Model) ca parte a evaluării documentației, adică în scopul înregistrării produsului, ca parte a Programului Național de Monitorizare a Reziduurilor implementat de Ministerul Sănătății și în scopul evaluării inițiale a riscului pentru sistemul RASFF.

#### Evaluarea cumulativă a riscului

Există o nevoie tot mai mare de a aborda riscurile potențiale ale expunerii combinate la mai multe reziduuri de pesticide din dietă. Dovezile disponibile sugerează că principala problemă este adăugarea dozelor acelor compuși care acționează prin același mecanism de acțiune. Riscurile pentru consumatori din cauza prezenței reziduurilor de pesticide în alimente sunt în prezent evaluate pe bază de substanță individuală. Cu toate acestea, multe pesticide au efecte similare, iar efectele lor asupra sănătății umane pot fi mai mari în combinație decât individual.

Evaluarea documentației în domeniul comportamentului în mediu Regulamentele (UE) nr. 545/2011 și 284/2013 stabilesc cerințele privind furnizarea datelor necesare despre produsele de protecție a plantelor, în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Informațiile furnizate despre produsul de protecție a plantelor, împreună



cu alte informații esențiale, precum și informațiile furnizate pentru substanța activă, trebuie să fie suficiente pentru a permite evaluarea comportamentului produsului în mediu. Toate informațiile relevante despre produsul de protecție a plantelor și despre substanța activă trebuie luate în considerare pentru evaluarea concentrațiilor de mediu previzibile (PEC).

În conformitate cu documentul Comunicarea Comisiei în cadrul implementării Regulamentului Comisiei (UE) nr. 284/2013 din 1 martie 2013 (2013/C 95/02), se aplică metodologia pentru efectuarea cercetărilor privind comportamentul produselor și substanțelor active în mediu, iar toate informațiile necesare sunt disponibile în ghidurile aferente.

Regulamentele (UE) nr. 544/2011 și 283/2013 stabilesc cerințele privind furnizarea datelor necesare despre substanțele active, în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1107/2009. Informațiile furnizate despre substanța activă trebuie să fie suficiente pentru a cerceta comportamentul acesteia în mediu (de exemplu, se evaluează modul și viteza de degradare în sol, mobilitatea în sol, ruta și viteza de degradare în sistemele acvatice).

Evaluarea documentației în domeniul ecotoxicologiei

În scopul înregistrării produselor de protecție a plantelor în domeniul ecotoxicologiei, este necesar să se prezinte:

- evaluarea riscului pentru păsări, care trebuie realizată conform ghidurilor EFSA „Risk Assessment for Birds and Mammals”, EFSA-Q-2009-00223;
- evaluarea riscului pentru mamifere, care trebuie realizată conform aceluiași ghiduri EFSA „Risk Assessment for Birds and Mammals”, EFSA-Q-2009-00223;
- evaluarea riscului pentru organisme acvatice. Pentru cererile depuse înainte de 1 ianuarie 2015, evaluarea riscului pentru organismele acvatice trebuie realizată conform ghidurilor SANCO/3268/2001 rev 4 (final) 17 octombrie 2002. Pentru cererile depuse după 1 ianuarie 2015, EFSA a elaborat primul dintre cele trei ghiduri noi pentru organisme acvatice „Guidance on tiered risk assessment for



plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters” (EFSA Journal 2013;11(7):3290).

- evaluarea riscului pentru albine conform ghidurilor în vigoare SANCO/10329/2002 rev 2 final 17 octombrie 2002. În cazul în care studiile utilizate în evaluarea riscului la nivel superior au fost realizate în condiții de câmp sau semi-câmp, expunerea în aceste studii trebuie să fie în conformitate cu GAP-ul propus pentru Republica Croația.
- evaluarea riscului pentru artropodele non-țintă conform ghidurilor ESCORT 2 și SANCO/10329/2002 rev 2 final 17 octombrie 2002. Evaluarea riscului se efectuează pentru fauna artropodelor non-țintă „în câmp” și „în afara câmpului”. În cazul în care evaluarea riscului arată că există un risc pentru artropodele non-țintă „în câmp”, este necesar să se furnizeze studii care să demonstreze refacerea faunei artropodelor non-țintă „în câmp”. În cazul în care evaluarea riscului arată că există un risc pentru artropodele non-țintă „în afara câmpului”, trebuie aplicate măsuri de reducere a riscului.
- evaluarea riscului pentru râme și microorganisme din sol conform ghidurilor SANCO/10329/2002 rev 2 final 17 octombrie 2002.
- evaluarea riscului pentru plantele non-țintă conform aceluiași ghiduri SANCO/10329/2002 rev 2 final 17 octombrie 2002.

Evaluarea documentației în domeniul toxicologiei

Institutul de Cercetare Medicală și Medicină a Muncii (IMI), împreună cu Centrul pentru Protecția Plantelor (HAPIH), efectuează evaluarea documentației și analiza riscurilor în următoarele domenii:

- Toxicologia mamiferelor,
- Expunerea aplicatorilor, lucrătorilor și altor persoane prezente,
- Coordonarea tehnică, elaborarea rapoartelor și a avizelor de specialitate.

Clasificarea și etichetarea produsului se realizează pe baza rezultatelor studiilor de toxicitate acută orală, dermală și prin inhalare, iritare oculară, iritație și





hipersensibilitate cutanată, conform criteriilor specificate în Anexa I a Regulamentului (CE) 1272/2008 sau conform tabelelor de conversie din Anexa VII a aceluiași regulament. La etichetare trebuie luate în considerare și etichetele de avertizare care se aplică produsului pe baza proprietăților toxicologice ale substanței active și/sau aditivilor din formulare, care se regăsesc în Anexa VI a Regulamentului sau în baza de date C&L Inventory de pe site-ul ECHA. Pentru toate substanțele active și toți aditivii din formulare este necesar să se prezinte Fișele de Securitate în limba engleză, în conformitate cu Anexa II a Regulamentului (CE) 1907/2006 (Regulamentul REACH), iar pentru agenții de protecție a plantelor se poate depune și Fișa de Securitate și Date Tehnice în limba croată, aprobată de Institutul Croat de Toxicologie, dacă aceasta a fost deja pregătită.

Începând cu 1 iunie 2015, produsele de protecție a plantelor trebuie clasificate și etichetate conform Regulamentului (CE) 1272/2008, care trebuie indicat pe propunerea de etichetă la depunerea cererii de înregistrare a produsului. Deși Regulamentul (CE) 1272/2008, împreună cu primele două amendamente (Adaptarea la Progresul Tehnic – ATP), a fost transpus în Ordinul privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor chimice periculoase (Monitorul Oficial 64/11, 137/11, 71/12), odată cu aderarea Croației la UE, modificările și completările ulterioare nu mai sunt transpuse sub forma unui Ordin, deoarece, din 1 iulie 2013, Regulamentul se aplică direct în Republica Croația. Toate modificările aduse Regulamentului pot fi consultate pe site-ul Agenției Europene pentru Produse Chimice (ECHA).

Evaluarea documentației produselor de protecție a plantelor din domeniul toxicologiei se bazează pe evaluarea proprietăților toxicologice ale substanței active și coformulanților, în conformitate cu cerințele prevăzute de: Regulamentul (CE) nr. 1107/2009; Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 – clasificarea și etichetarea substanțelor chimice; concluziile EFSA (Peer Review); Fișa tehnico-de securitate (STL/MSDS); Autorizațiile și etichetele statului membru relevant.

Aprobarea substanțelor active Agenția Europeană pentru Produse Chimice (ECHA), cu sediul în Finlanda, este responsabilă pentru utilizarea sigură a substanțelor chimice de către toate părțile implicate (mediu, consumatori, lucrători, companii etc.). ECHA aplică legislația UE privind substanțele chimice, asigură competitivitatea și inovația



industrii chimice europene, garantând totodată independența, transparența și fundamentarea științifică în procesul de luare a deciziilor.

Substanțele active sunt încă aprobate la nivelul Uniunii Europene. Industria pregătește studiile necesare pentru întocmirea documentației și selectează o țară raportoare care reprezintă compania în fața Comisiei Europene și a Autorității Europene pentru Siguranța Alimentară (EFSA), care efectuează evaluarea riscurilor în toate domeniile relevante, iar Comisia Europeană și statele membre, prin reprezentanții lor în Comitetul Permanent pentru Lanțul Alimentar și Sănătatea Animală – Produse de Protecție a Plantelor – Legislație, discută și iau decizii privind aprobarea substanțelor active cu majoritate calificată. Substanțele active sunt de obicei aprobate pentru o perioadă de până la zece ani și sunt supuse reevaluării periodice, iar în cazul apariției unor noi cunoștințe științifice, acestea pot fi reevaluate înainte de expirarea perioadei de aprobare. Condiția prealabilă pentru depunerea unei cereri de înregistrare este ca substanța activă conținută în produsul de protecție a plantelor să fie aprobată la nivelul Uniunii Europene.

Evaluările substanțelor active la nivelul UE, în care Republica Croația este stat membru raportor (Reference Member State – RMS), sunt realizate în cooperare cu Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA), care efectuează analiza riscurilor în procesul de aprobare sau reaprobare a substanței active, în timp ce Comisia Europeană are rolul de gestionare a riscurilor în procedură și ia decizia finală privind aprobarea unei substanțe active individuale la nivelul UE. Sarcinile de evaluare a riscului pentru substanța activă includ evaluarea documentației privind eficacitatea, reziduurile, proprietățile ecotoxicologice, comportamentul în mediu, metodele analitice, proprietățile fizico-chimice, toxicologia și expunerea utilizatorilor conform principiilor unice, unde trebuie asigurat un nivel ridicat de protecție a sănătății umane și animale și a mediului.

#### Perturbatorii endocrini (EDS) și biocidele

Perturbatorii endocrini (perturbatori hormonal) sunt substanțe naturale și chimice care pot modifica funcțiile sistemului hormonal la oameni și animale și, prin aceasta, pot afecta negativ sănătatea acestora.



În 2002, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a definit un perturbator endocrin ca o substanță sau un amestec care modifică funcția (funcțiile) sistemului endocrin și, în consecință, cauzează efecte adverse asupra sănătății unui organism intact, a descendenților săi sau a (sub)populațiilor.

Uniunea Europeană se ocupă de perturbatorii endocrini de ani de zile prin legislația din domenii precum sănătatea umană (inclusiv consumatorii și lucrătorii), sănătatea animalelor, hrana și furajele, precum și mediul înconjurător.

Agențiile de reglementare ale UE, comitetele științifice independente, Comisia și statele membre se preocupă deja de perturbatorii endocrini reglementați prin legislația sectorială în domenii care includ sănătatea umană (inclusiv sănătatea consumatorilor și a lucrătorilor), sănătatea animală și mediul. Exemplele includ legislația UE privind siguranța și sănătatea la locul de muncă (unde legislația privind agenții chimici la locul de muncă include toți agenții chimici, inclusiv perturbatorii endocrini), siguranța alimentelor și a furajelor (unde riscurile toxicologice, inclusiv cele provenite de la perturbatorii endocrini, fac obiectul unei evaluări complete a riscului) și produsele de consum (inclusiv, de exemplu, produsele cosmetice și jucăriile, REACH), precum și legislația de mediu.

Pe baza Regulamentului (UE) nr. 528/2012 privind produsele biocide, substanțele active care sunt considerate că interferează cu funcționarea sistemului endocrin nu vor fi aprobate, cu excepția cazului în care se stabilește că riscul de expunere la substanța activă este neglijabil sau dacă există dovezi că substanța activă este necesară pentru suprimarea sau controlul unui pericol grav pentru sănătatea umană și animală și pentru mediu.

Comisia Europeană a solicitat ECHA și Autorității Europene pentru Siguranța Alimentară (EFSA) să elaboreze, cu sprijinul Centrului Comun de Cercetare (JRC), ghiduri comune privind aplicarea criteriilor bazate pe pericol pentru identificarea perturbatorilor endocrini în contextul Regulamentului (CE) nr. 1107/2009 privind produsele de protecție a plantelor și al Regulamentului (UE) nr. 528/2012 privind produsele biocide, care au fost publicate în Jurnalul Oficial al EFSA.

Biocidele



Produsele biocide (Figura 1.27) sunt substanțe și amestecuri, pregătite în forma în care sunt livrate utilizatorului, care conțin una sau mai multe substanțe active, al căror scop este distrugerea, descurajarea, neutralizarea, prevenirea acțiunii sau controlul oricărui organism dăunător prin mijloace chimice sau biologice.



Figura 1.27 Biocide în protecția plantelor

Biocidele și agenții de protecție a plantelor sunt pesticide. Biocidele sunt utilizate în igiena comunală (DDD – dezinfectare, dezinsecție, deratizare), pentru menținerea igienei personale, pentru protejarea materialelor (de exemplu, pereții caselor împotriva ciupercilor și altor dăunători, bărcile împotriva lipitorilor sau algelor, lemnul împotriva diferiților dăunători etc.) și în multe alte locuri (de exemplu, pentru distrugerea peștilor, păsărilor și altor organisme dăunătoare).

În țara noastră, acest domeniu este reglementat prin Regulamentul European privind produsele biocide.

Produsele biocide pot conține, de asemenea, alți aditivi comuni inactivi care asigură eficiența, precum și pH-ul dorit, vâscozitatea, culoarea și mirosul produsului final. Produsele biocide sunt disponibile pe piață pentru nevoile consumatorilor profesioniști și/sau neprofesioniști (Wittmer IK et al., 2011; Christensen FM et al.; Scher et al., 2012).



Ordinul privind documentația pentru evaluarea substanței active din preparatele biocide, documentația pentru evaluarea preparatelor biocide, procedurile de evaluare a preparatelor biocide și utilizarea acestora, precum și tipurile de preparate biocide cu descrierile lor și principiile unice pentru evaluarea preparatelor biocide, stabilește documentația pentru evaluarea substanței active din preparatele biocide, documentația pentru evaluarea preparatelor biocide, procedura de evaluare a preparatelor biocide și utilizarea acestora, precum și tipurile de preparate biocide, descrierile lor și principiile unice pentru evaluarea preparatelor biocide.

#### Procedura de evaluare a produselor biocide

Organismul competent pentru evaluare analizează documentația, pregătește Raportul preliminar și concluziile evaluării. Raportul preliminar de evaluare este transmis solicitantului în termen de 30 de zile pentru prezentarea observațiilor scrise.

Raportul de evaluare și rezumatul proprietăților produsului sunt trimise spre evaluare de specialitate Comitetului pentru Produse Biocide (OBP). Comitetul pentru Produse Biocide are la dispoziție 180 de zile pentru a emite o opinie bazată pe evaluarea de specialitate și pentru a o transmite Comisiei. Comisia adoptă o decizie privind aprobarea produsului biocid în cadrul Uniunii (Figura 1.28).



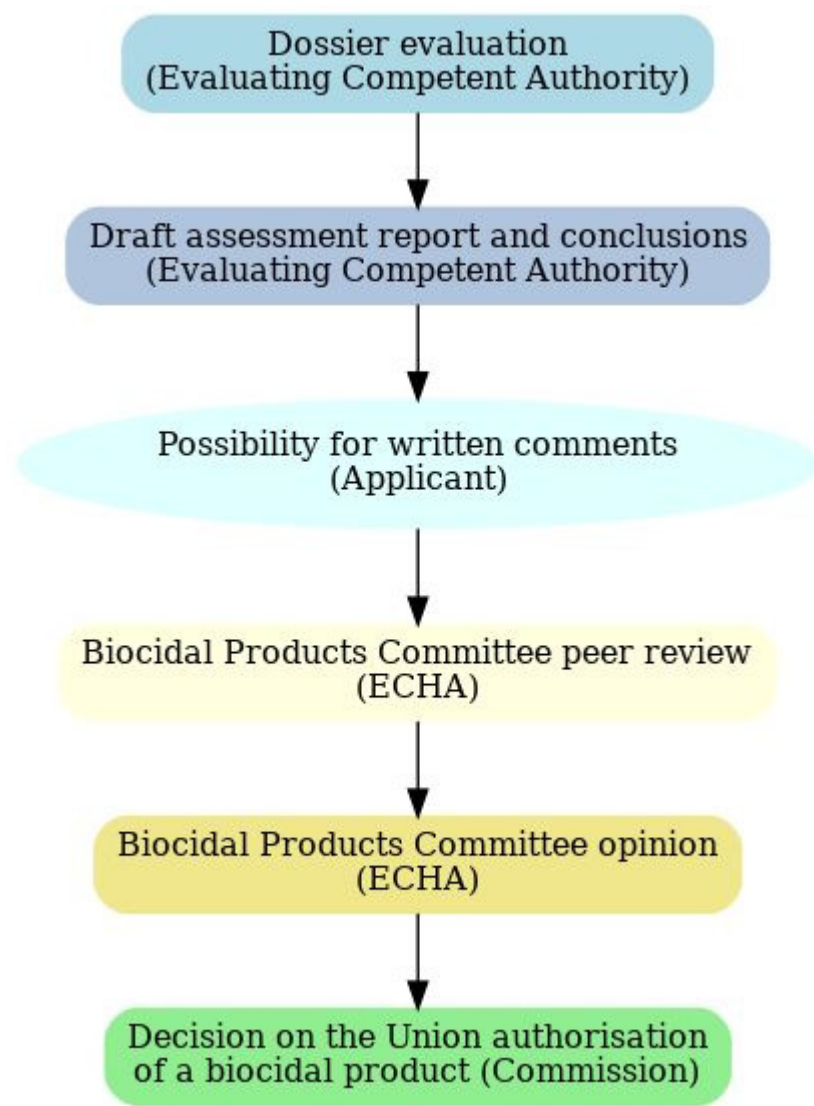


Figura 1.28 Vedere de ansamblu asupra procesului de evaluare a documentației produselor biocide

Cererile pentru aprobarea unui produs biocid sunt depuse în sistemul R4BP 3 (Registrul pentru produse biocide), precum și toate celelalte cereri bazate pe Regulamentul privind produsele biocide echivalente (BPR). Cerințele pentru înscrierea în registru și introducerea pe piață a preparatelor biocide, pentru produsele biocide care conțin substanțe active enumerate în paragraful 2 al articolului 89 din Regulamentul (UE) nr. 528/2012, sunt depuse prin intermediul formularului web.

Începând cu 1 septembrie 2015, produsele biocide nu pot fi puse la dispoziție pe piață dacă producătorul sau importatorul substanței active conținute în produs sau, dacă



este necesar, importatorul produsului biocid nu este inclus pe lista menținută de Agenția Europeană pentru Produse Chimice (ECHA).

Toate deciziile adoptate în conformitate cu Legea privind produsele biocide (Monitorul Oficial 63/07, 35/08, 56/10) încetează să mai fie valabile în ceea ce privește data aprobării unei substanțe active specifice pentru un anumit tip de produs și neaprobarea unei substanțe active, în modul specificat la articolul 89 din Regulamentul (UE) nr. 528/2012.

Procedura de înregistrare a produselor de protecție a plantelor în Republica Croația este aceeași ca cea desfășurată în celelalte state membre ale Uniunii Europene, iar pentru a reduce sarcina administrativă a fost introdus un sistem de înregistrare zonal. În acest mod se aplică principii unice de luare a deciziilor, precum și numeroase ghiduri și standarde ale UE și ale organizațiilor internaționale. Documentația produselor de protecție a plantelor trebuie realizată conform ghidurilor, standardelor și protocoalelor corespunzătoare (GLP, GEP, OECD, FAO, EPPO și altele). Evaluarea riscurilor și documentația evaluată constituie baza profesional-științifică pentru luarea deciziilor privind înregistrarea sau aprobarea individuală a produselor de protecție a plantelor.

Toate produsele de protecție a plantelor înregistrate în Croația pot fi găsite în motorul de căutare pentru produse înregistrate de pe site-ul Ministerului Agriculturii.

Prin înregistrarea unui produs de protecție a plantelor, riscul pentru sănătatea umană, animală și a mediului este redus, iar măsurile integrate și alternative de control al organismelor dăunătoare, bolilor plantelor și buruienilor sunt încurajate.

În scopul înregistrării unui produs de protecție a plantelor în Republica Croația, este necesar să se depună toate studiile necesare în conformitate cu ghidurile și legile prescrise, efectuate în zona sudică a UE, pe baza cărora produsul de protecție a plantelor ar putea fi aprobat, deoarece fără studii efectuate în zona sudică a UE nu este posibil să se stabilească dacă produsul prezintă riscuri pentru sănătatea copiilor și a adulților.



## 1.2 Fitoremedierea metalelor grele din soluri

Fitoremedierea este o strategie de bioremediere care implică utilizarea plantelor vii, a algelor sau a fungilor pentru a reduce contaminarea mediului, în special prin scăderea concentrației poluanților precum metalele grele, compușii organici sau radionuclizii din sol, apă sau aer (Figura 1.29). Acest proces este determinat de capacitatea naturală a plantelor și a microorganismelor de a absorbi, transforma sau sechestra acești poluanți, facilitând detoxifierea lor și promovând refacerea mediului. Utilizarea fitoremedierii ca soluție durabilă și rentabilă pentru remedierea siturilor contaminate a câștigat o atenție semnificativă în ultimele decenii (Vangronsveld, 2009).

Termenul „fitoremediere” este derivat din cuvântul grecesc *phytos* (care înseamnă plantă) și din cuvântul latin *remedium* (care înseamnă a trata sau a vindeca). Procesul include diverse mecanisme prin care plantele, în cooperare cu microorganismele asociate rădăcinilor, joacă un rol cheie în izolarea, transportul, detoxifierea și mineralizarea poluanților din mediul solului (Prasad, 2003).

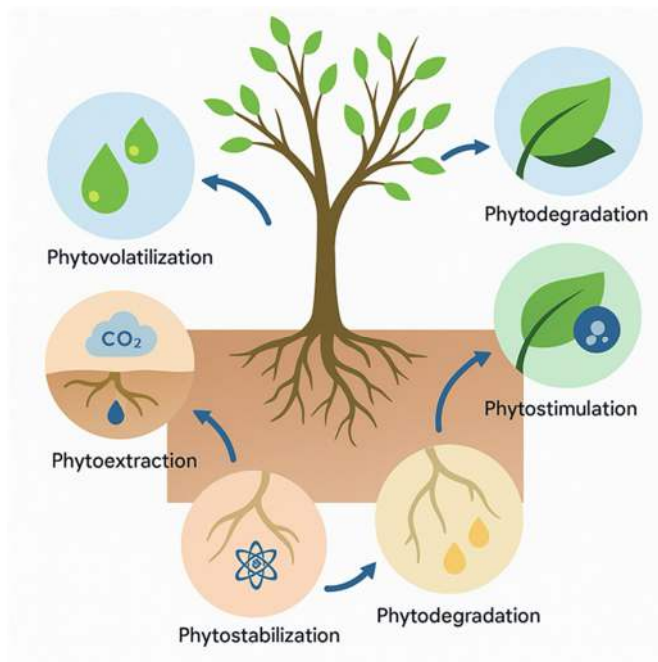


Figura 1.29 Tipuri de fitoremediere



## METODE DE FITOREMEDIERE

Remedierea solului contaminat cu metale grele poate fi realizată prin diverse metode:

FIZICE – spălarea solului

CHIMICE – bioremediere

BIOLOGICE – bioremediere

Exemple ale acestor metode (Figura 1.30) includ fitoremedierea, stabilizarea, rizofiltrarea, fitovolatilizarea și diferite metode de spălare a solului (Vangronsveld, 2009).

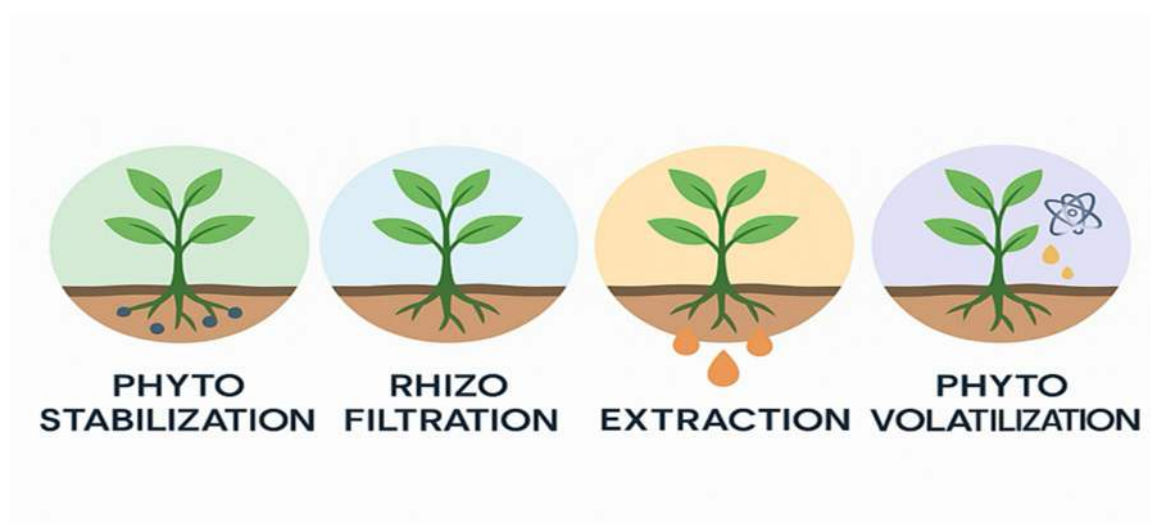


Figura 1.30 Metode de fitoremediere

Fitoremedierea utilizează plante, alge și ciuperci pentru a elimina, reduce sau transforma poluanții (Küpper, 2007).

### Mecanismele de bază ale fitoremedierii includ:

#### 1. Fitoproliferarea

Proces prin care plantele cresc în medii contaminate, în special în soluri sau ape poluate, și absorb poluanții prin rădăcini. Acest proces implică abilitatea naturală a plantelor de a tolera și acumula poluanți, precum metalele grele, compușii organici și alte substanțe toxice din mediu. Spre deosebire de mecanismele care implică imobilizarea sau stabilizarea poluanților (cum este fitorizostaza), fitoproliferarea se



concentrează pe absorbția activă a contaminanților de către plante pe măsură ce acestea cresc. Acest lucru o face o componentă esențială a strategiilor de fitoremediere destinate curățării siturilor poluate, prin utilizarea mecanismelor fiziologice inerente ale plantelor pentru a absorbi și, eventual, detoxifia poluanții (Cheng, 2002).

Fitoproliferarea poate fi deosebit de utilă în medii unde nivelurile de poluare sunt moderate sau ridicate, iar alte metode de remediere – precum tratamentele chimice sau îndepărtarea fizică – sunt prea costisitoare sau nefeabile. Prin acest proces, plantele pot contribui la îmbunătățirea calității solului sau apei, făcând din fitoproliferare o opțiune durabilă și ecologică pentru gestionarea siturilor contaminate.

Mecanismele fitoproliferării:

Fitoproliferarea este determinată de mai multe mecanisme esențiale prin care plantele absorb și acumulează poluanți din mediul înconjurător. Aceste mecanisme sunt adesea interconectate și pot varia în funcție de tipul de poluant, specia de plantă și condițiile de mediu. Mecanismele principale implicate în fitoproliferare includ: absorbția și translocarea poluanților prin rădăcini, bioacumularea metalelor și a poluanților, fitoremedierea compușilor organici, stimularea creșterii și extinderii rădăcinilor în solurile poluate, interacțiunile din rizosferă și mobilizarea poluanților (Glick, 2010).

Beneficiile fitoproliferării în reducerea poluării:

1. Îndepărtarea poluanților și stabilizarea contaminanților: Fitoproliferarea permite eliminarea activă a poluanților din siturile contaminate prin concentrarea acestor substanțe în țesuturile plantelor. Acest mecanism este deosebit de util pentru metalele grele, dar și pentru contaminanții organici. Prin absorbția și stocarea acestor poluanți, plantele reduc biodisponibilitatea lor în mediu, prevenind astfel contaminarea suplimentară a solului, apei și aerului. După ce poluanții sunt absorbiți și acumulați, plantele pot fi recoltate și eliminate în mod corespunzător, oferind o soluție de gestionare pe termen lung a siturilor contaminate.
2. Îmbunătățirea calității solului și a apei: Prin fitoproliferare, plantele contribuie la refacerea calității solurilor și corpurilor de apă poluate. În mediile acvatice contaminate, plantele pot absorbi poluanții direct din apă, îmbunătățind calitatea



acesteia prin reducerea concentrațiilor de contaminanți. În mod similar, în solurile contaminate, plantele pot îmbunătăți structura solului și pot reduce eroziunea, ceea ce duce la creșterea fertilității și stabilității solului.

3. Soluție rentabilă și durabilă: Fitoproliferarea este o metodă ecologică și economică de remediere a mediului. Comparativ cu tehnologiile tradiționale de remediere, cum ar fi excavarea solului, tratamentele chimice sau spălarea solului, fitoproliferarea este relativ ieftină. Utilizarea plantelor pentru reducerea poluării diminuează și amprenta ecologică a proceselor de remediere, făcând din aceasta o opțiune sustenabilă pentru gestionarea mediului pe termen lung.
4. Refacerea biodiversității și a ecosistemelor: Unul dintre avantajele majore ale fitoproliferării este că permite refacerea biodiversității în mediile poluate. Prin utilizarea plantelor native sau adaptate mediului local, fitoproliferarea poate ajuta la restabilirea ecosistemelor naturale afectate de poluare. În plus, creșterea plantelor în zonele contaminate poate atrage și susține fauna sălbatică, contribuind astfel la refacerea ecosistemului și la îmbunătățirea stării generale a mediului (Figura 1.31).

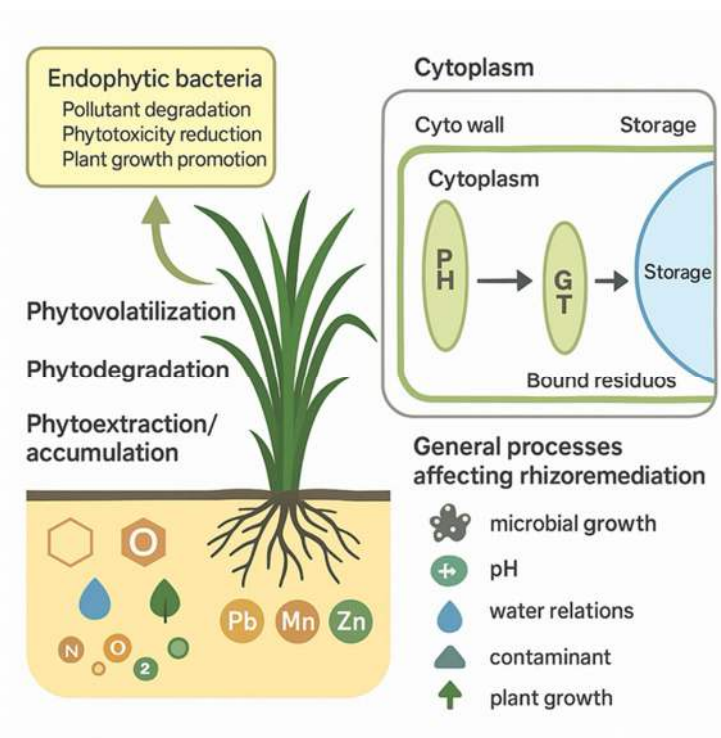


Figure 1.31. Mecanisme ale fitoremedierii



## 2. Fitorizostaza

Fitorizostaza este un termen utilizat pentru a descrie o formă specifică de fitoremediere în care plantele acumulează poluanți în țesuturile lor, în special în rădăcini, fără a suferi daune semnificative. Acest mecanism servește ca o strategie importantă pentru imobilizarea contaminanților, în special a metalelor grele, în rizosferă, prevenind răspândirea lor în zonele înconjurătoare. Prin concentrarea poluanților într-o zonă localizată, plantele facilitează îndepărtarea sau izolarea mai ușoară a acestor substanțe periculoase. Deși fitorizostaza este adesea considerată o tehnică de stabilizare, ea joacă un rol crucial în domeniul mai larg al remedierii mediului (Clemens, 2001).

Mecanismele fitorizostazei:

În fitorizostază, plantele nu „curăță” neapărat mediul prin extragerea și îndepărtarea poluanților din sol, ci acționează pentru a conține acești contaminanți într-o zonă specifică. Poluanții sunt, în general, reținuți în zona rădăcinilor, unde devin imobilizați, reducându-și mobilitatea și prevenind infiltrarea lor în apele subterane sau răspândirea prin sol și aer. Mai multe mecanisme stau la baza procesului de fitorizostază, cum ar fi: exudarea rădăcinilor și legarea metalelor, formarea complexelor metalice, reținerea fizică în rădăcini, modificarea proprietăților solului (Hossain, 2012).

Beneficiile fitorizostazei:

1. Prevenirea răspândirii contaminanților: Principalul beneficiu al fitorizostazei este capacitatea acesteia de a reduce răspândirea poluanților. Prin imobilizarea metalelor grele sau a altor contaminanți în zona rădăcinilor, plantele împiedică transportul acestor substanțe prin sol sau apă, protejând astfel ecosistemele învecinate. Acest lucru este deosebit de important în mediile în care contaminanții pot fi transportați prin scurgeri de suprafață sau infiltrați în apele subterane.
2. Daune minime pentru plante: Spre deosebire de alte mecanisme de fitoremediere, cum ar fi fitoextracția, fitorizostaza permite plantelor să acumuleze poluanți fără a provoca daune semnificative sănătății plantei. Poluanții rămân concentrați în sistemul radicular, prevenind deplasarea lor în

tulpini și frunze, unde ar putea afecta fotosinteza sau creșterea. Astfel, impactul negativ asupra plantei este minim, iar aceasta poate continua să funcționeze normal în mediul său.

3. Îmbunătățirea calității solului: Fitorizostaza poate duce și la îmbunătățirea calității solului. Prin stabilizarea poluanților într-o singură zonă, se reduce toxicitatea solului din regiunile înconjurătoare. În plus, sistemele radiculare ale plantelor implicate în fitorizostază pot îmbunătăți structura solului, pot crește activitatea microbiană în rizosferă și pot contribui la o fertilitate mai bună a solului.
4. Remediere rentabilă: Fitorizostaza, ca parte a unei strategii mai ample de fitoremediere, reprezintă o abordare rentabilă și ecologică pentru gestionarea siturilor contaminate. Această tehnică necesită o întreținere relativ redusă comparativ cu metodele convenționale de remediere, cum ar fi excavarea, tratamentele chimice sau spălarea solului. În plus, plantele utilizate în fitorizostază pot fi cultivate direct la fața locului, reducând costurile de transport și sporind sustenabilitatea generală a procesului.

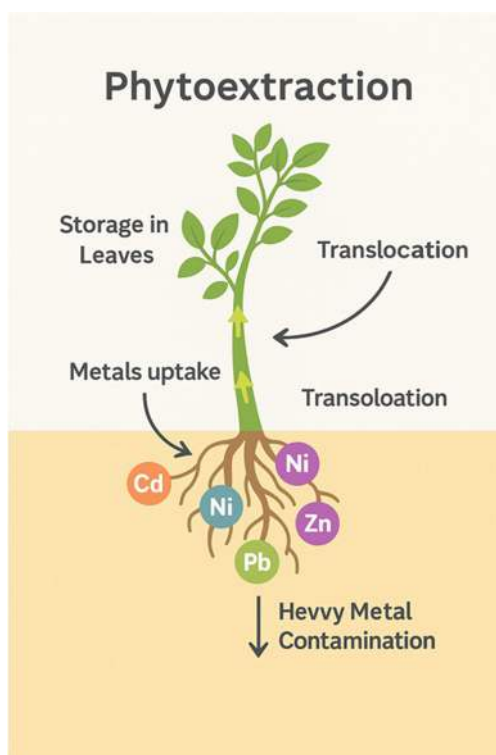


Figura 1.32. Mecanisme ale fitoextracției



### 3. Fitodegradarea

Fitodegradarea este un proces prin care plantele, prin producerea de enzime specifice, descompun sau transformă poluanții — de obicei contaminanți organici — în compuși mai puțin dăunători. Acest mecanism de fitoremediere joacă un rol crucial în detoxifierea mediilor poluate, utilizând căile metabolice naturale ale plantelor pentru a degrada substanțele toxice. Spre deosebire de alte mecanisme de fitoremediere, cum ar fi fitoextracția (care implică acumularea poluanților în țesuturile plantelor), fitodegradarea se concentrează pe transformarea biochimică sau degradarea poluanților, ducând adesea la mineralizarea contaminanților în produse netoxice (McGrath, 2001; McGrath și Zhao, 2003).

Fitodegradarea este o strategie importantă pentru remedierea siturilor contaminate cu poluanți organici, precum pesticide, solvenți, hidrocarburi petroliere și substanțe chimice industriale. Plantele capabile de fitodegradare pot metaboliza acești contaminanți direct prin activitate enzimatică, descompunându-i în forme mai puțin toxice sau chiar inofensive, contribuind astfel la refacerea mediului (Newman și Reynolds, 2004).

#### Mecanismele fitodegradării

Fitodegradarea implică mai multe căi biochimice prin care plantele utilizează propriile sisteme enzimatică pentru a degrada sau modifica contaminanții. Aceste procese sunt facilitate atât de enzimele plantelor, cât și de comunitățile microbiene din rizosferă (zona din jurul rădăcinilor plantelor), care pot acționa sinergic cu planta pentru a descompune poluanții. Unele dintre principalele mecanisme implicate în fitodegradare includ: descompunerea enzimatică a poluanților organici, căi metabolice pentru degradarea poluanților, rolul microorganismelor din rizosferă, reducerea toxicității și mineralizarea.

#### Beneficiile fitodegradării:

1. Detoxifierea poluanților organici: Fitodegradarea este deosebit de utilă pentru tratarea poluanților organici, precum pesticide, erbicide, solvenți și produse petroliere. Prin utilizarea enzimelor vegetale pentru a descompune sau transforma aceste substanțe, fitodegradarea poate reduce semnificativ



toxicitatea acestora, făcând mediul mai sigur pentru faună, floră și oameni. Procesul poate, de asemenea, contribui la descompunerea poluanților complecși în compuși mai simpli și mai puțin toxici, îndepărtându-i astfel eficient din situl contaminat.

2. **Sustenabilitate și caracter ecologic:** Fitodegradarea este un proces natural care necesită un aport minim de energie comparativ cu metodele tradiționale de îndepărtare a poluanților, precum incinerarea sau tratamentul chimic. Prin utilizarea sistemelor enzimatice ale plantelor, acest proces este durabil și ecologic. Folosirea plantelor și a microorganismelor pentru curățarea mediului reprezintă o soluție rentabilă și cu întreținere redusă, aliniată principiilor chimiei verzi și dezvoltării durabile.
3. **Aplicabilitate la scară largă:** Fitodegradarea are potențialul de a fi utilizată în eforturi de remediere a mediului la scară largă. Plantele pot fi cultivate pe suprafețe extinse pentru a absorbi și degrada poluanții, ceea ce face ca acest proces să fie potrivit pentru tratarea solurilor contaminate, a corpurilor de apă și a siturilor industriale. Mai mult, anumite plante capabile de fitodegradare, cum ar fi speciile de *Populus*, au rate rapide de creștere și pot acumula cantități mari de poluanți, fiind candidați ideali pentru utilizarea în programele de remediere.
4. **Îmbunătățirea sănătății solului și a ecosistemelor:** Degradarea contaminanților organici prin fitoremediere poate îmbunătăți sănătatea solului prin reducerea nivelurilor de substanțe chimice toxice care inhibă activitatea microbiană și creșterea plantelor. Acest proces poate contribui, de asemenea, la refacerea ecosistemelor degradate de poluare, ducând la recuperarea biodiversității și a funcțiilor ecosistemice (Figura 1.33).



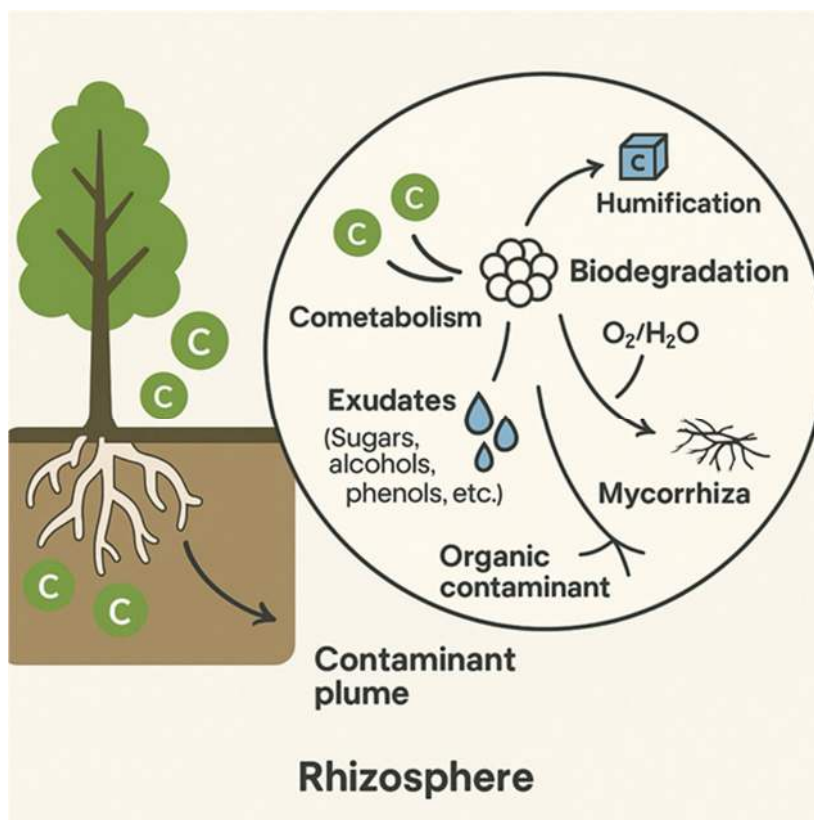


Figura 1.33. Mecanism de remediere în rizosferă

#### 4. Fitoextracția

Fitoextracția este un proces prin care plantele absorb contaminanți, de obicei metale grele sau elemente toxice, din sol sau apă, prin sistemele lor radiculare, și îi acumulează în părțile aeriene, cum ar fi frunzele, tulpinile și florile. Aspectul cheie al fitoextracției este că, după ce poluanții sunt absorbiți și concentrați în plantă, plantele sunt recoltate și îndepărtate din zona contaminată, eliminând astfel fizic poluanții din mediu. Acest mecanism reprezintă o parte importantă a fitoremedierii, oferind o metodă sustenabilă și ecologică pentru curățarea siturilor contaminate (Raskin, 1994).

Principalii poluanți vizați prin fitoextracție sunt, de obicei, metalele grele precum plumbul (Pb), cadmiul (Cd), arsenul (As), mercurul (Hg) și nichelul (Ni), precum și alte elemente toxice. Aceste metale sunt adesea nedegradabile și pot persista în mediu, provocând poluare pe termen lung a solurilor și apelor. Prin fitoextracție, plantele pot elimina eficient acești contaminanți și îi pot concentra în biomasa lor, care poate fi apoi



eliminată în siguranță sau prelucrată, reducând astfel toxicitatea generală a zonei contaminate.

Mecanismele fitoextracției:

Fitoextracția (Figurile 1.32 și 1.34) implică o serie de etape prin care plantele interacționează cu poluanții din mediu, îi absorb și îi concentrează în țesuturile lor. Mai multe mecanisme cheie sunt implicate în acest proces: absorbția poluanților prin rădăcini, transportul poluanților către părțile aeriene, concentrarea poluanților în țesuturile plantelor, recoltarea și eliminarea materialului vegetal contaminat (González, 2008).

Beneficiile fitoextracției:

1. **Rentabilitate și sustenabilitate:** Unul dintre principalele avantaje ale fitoextracției este rentabilitatea sa comparativ cu metodele tradiționale de remediere, cum ar fi excavarea, tratamentele chimice sau spălarea solului. Fitoextracția necesită mai puțină energie și infrastructură, făcând-o o opțiune mai sustenabilă și mai viabilă economic, în special pentru aplicații la scară largă. Plantele pot fi cultivate direct la fața locului, reducând nevoia de transport și alte provocări logistice.
2. **Metodă neinvazivă și ecologică:** Spre deosebire de tehnicile mecanice sau chimice de remediere, fitoextracția este neinvazivă și provoacă perturbări minime mediului. Ea nu implică îndepărtarea sau distrugerea structurii solului, ceea ce poate duce la eroziune și distrugerea habitatului. În plus, utilizarea plantelor pentru remediere contribuie la sechestrarea carbonului, ceea ce reprezintă un beneficiu suplimentar pentru mediu.
3. **Îndepărtare selectivă a contaminanților:** Fitoextracția poate fi selectivă, permițând eliminarea unor poluanți specifici fără a perturba alte componente ale ecosistemului. Prin utilizarea hiperacumulatorilor, este posibilă țintirea unor metale sau contaminanți specifici pentru extracție, asigurând astfel un proces de curățare eficient și concentrat.

4. Refacerea sănătății solului: Prin fitoextracție, plantele pot contribui la refacerea sănătății solurilor contaminate. Pe măsură ce poluanții sunt eliminați din sol, proprietățile fizice și chimice ale acestuia se pot îmbunătăți, făcându-l mai potrivit pentru creșterea viitoare a plantelor și reducând riscul de expunere toxică pentru ecosistemele învecinate.

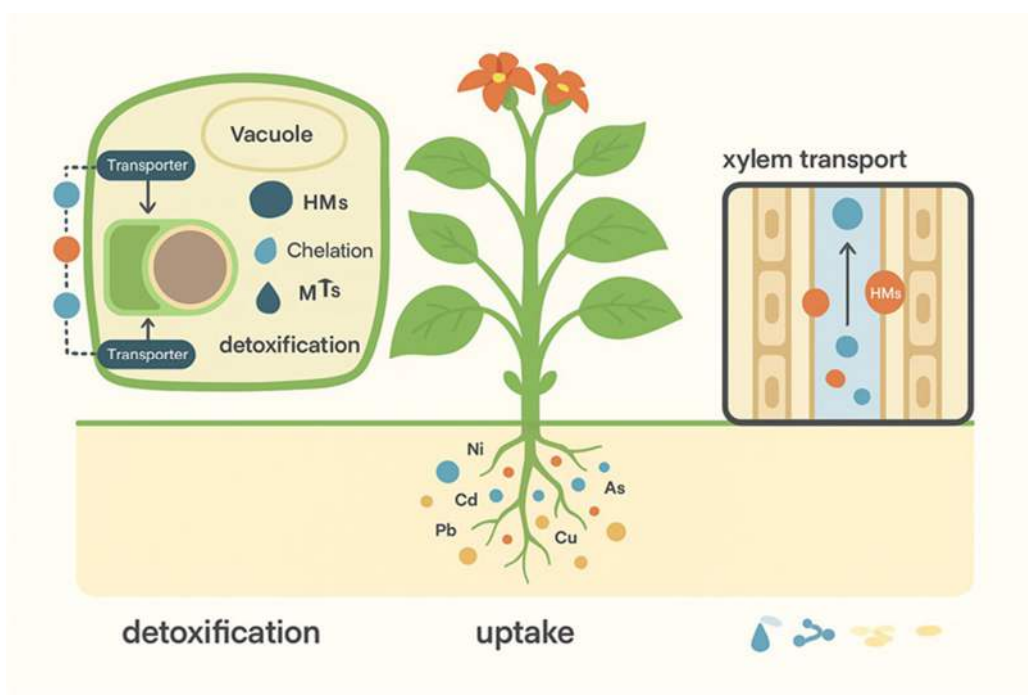


Figura 1.34. Mecanism de remediere în interiorul țesutului vegetal

## 5. Fitorizofiltrarea

Tehnologie inovatoare de bioremediere care valorifică abilitatea naturală a plantelor de a absorbi, acumula și detoxifia poluanții din apă prin sistemele lor radiculare. Acest proces nu doar reduce poluarea mediului, ci și promovează practici durabile în gestionarea resurselor de apă.

Mecanismele fitorizofiltrării

Plantele utilizează mai multe mecanisme pentru a filtra poluanții, care includ: absorbția prin rădăcini, translocarea, transformările biochimice, rizodegradarea (Juhasz, 2000).



## Beneficiile fitorizofiltrării

Fitorizofiltrarea oferă numeroase avantaje pentru remedierea mediului și gestionarea apei (Figura 1.35).

1. **Rentabilitate:** Comparativ cu metodele tradiționale de remediere, cum ar fi excavarea sau tratamentele chimice, fitorizofiltrarea este, în general, mai economică. Ea necesită mai puțină energie și investiții în infrastructură, ceea ce o face o opțiune viabilă pentru aplicații la scară largă.
2. **Sustenabilitate ecologică:** Această metodă utilizează procese biologice naturale, reducând dependența de substanțe chimice sintetice și minimizând perturbarea ecologică. Ea promovează biodiversitatea și poate îmbunătăți sănătatea solului.
3. **Versatilitate:** Fitorizofiltrarea poate fi aplicată la o gamă largă de contaminanți, inclusiv metale grele, poluanți organici și nutrienți în exces. Această versatilitate permite utilizarea ei în medii diverse, de la situri industriale până la zone urbane.
4. **Valoare estetică:** Integrarea plantelor în strategiile de remediere poate îmbunătăți aspectul estetic al siturilor contaminate. Spațiile verzi pot stimula biodiversitatea locală și pot oferi oportunități recreative pentru comunități.
5. **Implicarea și educarea comunității:** Proiectele de fitorizofiltrare pot încuraja implicarea comunităților și pot crește gradul de conștientizare privind problemele de mediu, promovând un sentiment de responsabilitate și grijă față de natură.
6. **Sechestrarea carbonului:** Plantele utilizate în fitorizofiltrare pot sechestra carbonul, contribuind la atenuarea schimbărilor climatice și la îmbunătățirea conținutului de materie organică din sol.
7. **Reducerea costurilor de tratare a apei:** Prin îmbunătățirea calității apei la sursă, fitorizofiltrarea poate reduce sarcina asupra stațiilor de tratare a apei, conducând la scăderea costurilor operaționale.

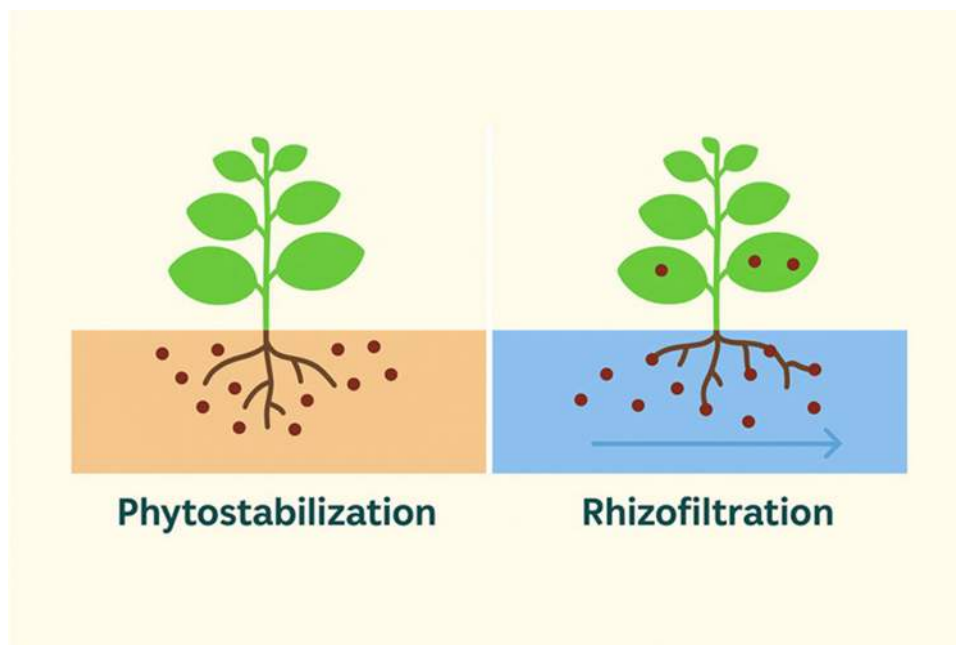


Figura 1.35. Efectul fitostabilizării și al rizofiltrării

### 1.3 Absorbția metalelor grele

Există diferite tipuri de procese care permit absorbția și translocarea metalelor grele în plante, incluzând absorbția prin sistemul radicular, transportul rădăcină-tulpină, xilem și sechestrarea (Yan et al., 2020). Deși multe metale grele există sub forme solubile și sunt ușor absorbite de plante, există și forme insolubile. Plantele dezvoltă diferite mecanisme pentru a facilita disponibilitatea acestor metale în sol. Unul dintre aceste mecanisme implică secreția de compuși chelatori de către rădăcinile plantelor, făcând metalele disponibile în sol (Dalvi și Bhalerao, 2013).

#### 1. Absorbția prin rădăcini

Primul pas în absorbția metalelor grele are loc la nivelul rădăcinilor plantei. Metalele grele pot pătrunde în plantă prin două căi principale:

- **Calea apoplastică:** Această cale implică difuzia pasivă, prin care metalele grele sunt absorbite de țesuturile neviabile, în principal prin pereții celulari și spațiile intercelulare. Ruta apoplastică permite deplasarea metalelor fără a traversa membranele plasmactice ale celulelor rădăcinii, facilitând o absorbție rapidă (Peer et al., 2005). Totuși, această cale este limitată la anumite forme și concentrații de metale.





- **Calea simplastică:** În contrast, calea simplastică este un proces activ de transport, prin care metalele grele se deplasează prin celulele vii, prin citoplasmă. Acest mecanism necesită energie, de obicei derivată din ATP, pentru a transporta metalele prin membranele plasmatiche. Această cale este esențială pentru absorbția micronutrienților necesari și ajută la reglarea homeostaziei metalelor în interiorul plantei (Fitzgerald et al., 2019).

## 2. Secreția compușilor chelatori

Plantele au dezvoltat mecanisme pentru a crește biodisponibilitatea metalelor grele în sol. Un mecanism cheie este secreția de compuși chelatori din exudatele radiculare. Acești compuși, care includ acizi organici, aminoacizi și fitochelatine, se leagă de metalele grele, crescând solubilitatea acestora și facilitând absorbția (Dalvi și Bhalerao, 2013). De exemplu, acidul citric și acidul malic pot mobiliza eficient fierul și alți ioni metalici, făcându-i mai accesibili pentru plante (Sato et al., 2018).

## 3. Formarea complexelor și imobilizarea

După ce sunt absorbite, metalele grele formează complexe cu diverși chelatori în celulele rădăcinii. Aceste complexe pot fi imobilizate în spațiile extracelulare sau în interiorul organelor, împiedicând metalele să exercite efecte toxice asupra funcțiilor celulare (Ali et al., 2013). Chelatarea reduce biodisponibilitatea metalelor grele, permițând plantelor să le detoxificeze și să le stocheze în siguranță. În plus, sechestrarea vacuolară este o strategie comună prin care metalele sunt depozitate în vacuole, izolându-le suplimentar de căile metabolice (Yuan et al., 2015).

## 4. Transportul către xylem

După imobilizare, ionii metalelor grele care sunt sechestrați în țesuturile rădăcinii sunt transportați către stele, unde intră în vasele xilemului. Această tranziție este esențială pentru transportul ascendent, deoarece xilemul conduce apa și substanțele nutritive dizolvate de la rădăcini către părțile superioare ale plantei (Thakur et al., 2016). Deplasarea prin xilem facilitează și distribuirea metalelor necesare pentru funcțiile fiziologice din diferite țesuturi ale plantei.



## 5. Translocarea prin xylem

Odată ajunse în xilem, metalele grele sunt translocate prin plantă, ajungând în tulpini, frunze și chiar fructe. Acest proces este determinat în principal de transpirație, prin care apa se evaporă de la suprafața frunzelor, creând o presiune negativă care trage apa (și metalele dizolvate) în sus (Kumar et al., 2022). Eficiența translocării poate varia între diferite specii de plante, unele specii demonstrând o capacitate mai mare de acumulare a metalelor în părțile aeriene, ceea ce este esențial pentru eforturile de fitoremediere.

## 6. Rolul asociațiilor micoriziene

Multe plante formează relații simbiotice cu ciupercile micoriziene, care îmbunătățesc absorbția nutrienților, inclusiv a metalelor grele. Ciupercile micoriziene măresc suprafața de absorbție a rădăcinilor, îmbunătățind capacitatea plantei de a absorbi metale din sol. Această relație poate duce la o absorbție și o translocare sporite ale metalelor, deoarece ciupercile pot solubiliza nutrienții și metalele grele, făcându-le mai accesibile pentru rădăcinile plantelor (Smith și Read, 2008).

## CĂILE DE ABSORBȚIE ALE METALELOR GRELE

Absorbția acestor metale grele are loc prin două căi distincte și esențiale: apoplastică și simplastică. Calea apoplastică reprezintă un mecanism de difuzie pasivă prin care țesuturile neviabile, cum ar fi pereții celulari și spațiile intercelulare, absorb metalele grele. Acest proces nu necesită energie și permite deplasarea ionilor metalici prin spațiile dintre celule, evitând practic traversarea membranelor celulare. În contrast, calea simplastică implică un transport activ, prin care metalele grele pătrund în țesuturile vii, traversând citoplasma și membranele celulelor radiculare. Această cale necesită energie, utilizând ATP pentru a facilita mișcarea ionilor metalici, asigurând astfel absorbția selectivă a nutrienților esențiali și a metalelor grele de către plantă (Peer et al., 2005).

După absorbție, metalele grele interacționează cu diverși chelatori, care sunt compuși organici capabili să formeze complexe stabile cu ionii metalici. Aceste complexe se formează în interiorul celulelor rădăcinii, având rolul de a imobiliza metalele grele în spațiile extracelulare sau intracelulare. Acest proces este esențial deoarece împiedică



metalele să interfereze cu funcțiile celulare vitale și minimizează toxicitatea lor asupra plantei (Ali et al., 2013). De exemplu, chelatorii precum fitochelatinele și metalotioneinele joacă un rol esențial în detoxifierea metalelor grele și în facilitarea depozitării acestora în vacuole sau pereții celulari.

Odată ce ionii metalelor grele sunt sechestrați în spațiul celular, aceștia sunt transferați către stele, partea centrală a rădăcinii unde se află țesutul vascular. De acolo, ei se deplasează prin xilem, un tip de țesut vascular responsabil de transportul apei și al substanțelor nutritive, pe măsură ce urcă prin rădăcini spre părțile aeriene ale plantei (Thakur et al., 2016). Vasele de xilem creează o rețea continuă care permite transportul eficient al apei, nutrienților dizolvați și al metalelor grele, esențiale pentru diverse procese fiziologice.

În cele din urmă, aceste metale grele sunt translocate prin vasele de xilem și părăsesc rădăcinile, răspândindu-se mai departe în structura plantei, inclusiv în tulpini și frunze (Kumar et al., 2022). Acest proces de translocare nu este unul pur pasiv; el este reglat complex de starea fiziologică a plantei și de condițiile de mediu. Factori precum rata transpirației, disponibilitatea nutrienților și prezența unor transportori specifici de metale pot influența semnificativ gradul de absorbție și distribuție a metalelor grele în întreaga plantă.

Înțelegerea acestor căi de absorbție a metalelor grele este esențială, mai ales într-o perioadă în care poluarea solului și a apei este tot mai răspândită din cauza activităților industriale, a practicilor agricole și a urbanizării. Pentru studenții la științele mediului, biologie sau domenii conexe, este important să înțeleagă implicațiile acumulării metalelor grele în plante, care nu afectează doar sănătatea acestora, ci și siguranța alimentară și sănătatea umană, prin lanțul trofic. Mai mult, investigarea mecanismelor care stau la baza absorbției metalelor grele poate contribui la dezvoltarea strategiilor de fitoremediere, prin care plantele sunt utilizate pentru a extrage sau stabili metalele grele din mediile contaminate, contribuind astfel la refacerea ecologică și la sustenabilitate (Pietrini, 2005).



## FITOREMEDIEREA CA SOLUȚIE

În prezent, fitoremedierea a devenit o soluție tehnologică eficientă și accesibilă utilizată pentru extragerea sau îndepărtarea metalelor inactive și a contaminanților metalici din solurile poluate.

Plantele cu o capacitate excepțională de acumulare a metalelor sunt cunoscute sub denumirea de plante hiperacumulatoare (Trapp și Legind, 2010).

Numeroase tipuri de plante reușesc să absoarbă poluanți precum plumbul, cadmiul, cromul, arsenul și diverși radionuclizi din sol. Astfel, una dintre categoriile fitoremedierii, fitoextractia, poate fi utilizată pentru a elimina metalele grele din sol, folosind capacitatea plantelor de a absorbi metale esențiale pentru creșterea lor (Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo și Ni).

De asemenea, unele metale fără o funcție biologică cunoscută pot fi acumulate (Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se, Hg) (Vamerali et al., 2009).

Tabelul 1.1 Tipuri de plante și capacitatea lor de a remedia metalele grele

| Specii de plante            | Țesut                     | Metale rezistente |
|-----------------------------|---------------------------|-------------------|
| <i>Alyssum bertolonii</i>   | Frunze, tulpină, rădăcini | Ni                |
| <i>Alnus firma</i>          | rădăcini                  | Pb, Cu            |
| <i>Brassica napus</i>       | rădăcini                  | Pb                |
| <i>Thlaspi caerulescens</i> | tulpină, rădăcini         | Zn, Cd            |
| <i>Thlaspi goesingense</i>  | tulpină                   | Ni                |
| <i>Solanum nigrum</i>       | Frunze, tulpină, rădăcini | Cu, Cd, Cr        |
| <i>Arabis hirsute</i>       | Frunze, tulpină           | Pb, Zn            |
| <i>Brassica chinensis</i>   | rădăcini                  | Cd, Pb            |
| <i>Commelina communis</i>   | Frunze, tulpină, rădăcini | Pb                |
| <i>Elsholtzia splendens</i> | Frunze, tulpină, rădăcini | Cu                |

Avantajele fitoremedierii constau în eficiența sa în reducerea poluanților, costul redus, aplicabilitatea pentru o gamă largă de poluanți și, în general, faptul că reprezintă o



metodă prietenoasă cu mediul. În același timp, este o opțiune financiar acceptabilă și mai ieftină pentru remedierea poluării mediului, fiind în special potrivită pentru suprafețe mari care prezintă niveluri relativ scăzute de contaminare. Această tehnologie a atras recent atenția ca o alternativă inovatoare la metodele de tratament mai consacrate, utilizate în depozitele de deșeuri periculoase, deoarece nu necesită echipamente costisitoare sau personal foarte specializat. De asemenea, este rentabilă pentru remedierea unor cantități mari de apă cu concentrații scăzute de contaminanți și pentru suprafețe extinse de sol cu contaminare ușoară până la moderată.

## PLANTE DE REMEDIERE ÎN NATURĂ

Diverse specii de plante au demonstrat capacitatea de a remedia medii contaminate prin mecanisme precum fitoremedierea, fitodegradarea și fitostabilizarea (Tabelul 1.1).

### Floarea-soarelui

- Contaminanți: Metale grele (plumb, cadmiu, uraniu).
- Mecanism: Floarea-soarelui este cunoscută pentru capacitatea sa de a absorbi și stoca metale grele în țesuturile sale. Studiile au arătat că poate extrage eficient metalele grele din solurile contaminate, ceea ce o face valoroasă pentru bioremediere (Brown et al., 2003).

### Salcia

- Contaminanți: Metale grele și poluanți organici.
- Mecanism: Salciile au sisteme radiculare extinse care îmbunătățesc absorbția contaminanților din sol și apă. Capacitatea lor de a susține activitatea microbiană în rizosferă le crește eficiența în fitoremediere (Huang et al., 2008).

### Muștarul Indian

- Contaminanți: Metale grele (plumb, cadmiu, seleniu).
- Mecanism: Această specie este un bine-cunoscut hiperacumulator de metale grele. Cercetările indică faptul că muștarul indian poate absorbi cantități semnificative de metale grele, făcându-l util pentru remedierea solurilor (Kumar et al., 2011).





#### Stuful comun

- Contaminanți: Nutrienți (azot, fosfor) și poluanți organici.
- Mecanism: Stuful comun este eficient în filtrarea poluanților din apă și în îmbunătățirea calității apei prin sistemul său radicular extins. Rolul său în zonele umede construite evidențiază utilitatea sa în tratarea apelor reziduale (Vymazal, 2011).

#### Coriandrul

- Contaminanți: Metale grele (plumb, cadmiu).
- Mecanism: Coriandrul a demonstrat un potențial ridicat de a absorbi metale grele din solurile contaminate, făcându-l un candidat potrivit pentru remedierea solurilor urbane (Jabeen et al., 2015).

Aceste plante servesc drept instrumente naturale pentru remedierea mediului, oferind un mijloc sustenabil și eficient de combatere a contaminării solului și apei. Capacitatea lor de a absorbi, stabiliza și detoxifica poluanții nu doar îmbunătățește sănătatea mediului, ci contribuie și la biodiversitate și la refacerea ecosistemelor. Utilizarea acestor specii în eforturile de remediere poate oferi beneficii ecologice semnificative, în timp ce abordează provocările legate de contaminare.

## 1.4 Bibliografie

Ali H, Khan E, Sajad MA. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*. 2013;91(7):869–81.

Attallah ER, Barakat DA, Maatook GR, Ashour-Badawy HA. Validation of a quick and easy (QuEChERS) method for determination of pesticide residues in dried herbs. *J Food Agric Environ*. 2012;10(1):755–62.

Bottomley P, Sutherland MW, Wilson BA, Rognoni B, Kelly A, Percy CD. Soil solarisation delivers near-zero levels of *Fusarium pseudograminearum* in cereal crown rot reference sites. *Crop Prot*. 2024;185:106887.

Brown SL, Chaney RL, Angle JS, Baker AJM. Phytoremediation potential of plants for removing heavy metals from soil. *Environ Pollut*. 2003;122(1):163–75.



Bursić V. Optimizacija hromatografskih metoda i određivanje ostataka fungicida u plodovima krastavca [doctoral dissertation]. Novi Sad: University of Novi Sad, Faculty of Agriculture; 2011.

Cheng H. Root exudation and rhizosphere interactions in heavy metal contamination. *Environ Pollut.* 2002;120(3):1251–60.

Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta.* 2001;212(4):475–86.

Core J. Quechers method catches pesticide residues. *Agric Res Mag.* 2003;51(7):9.

Dalvi AA, Bhalerao SA. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Ann Plant Sci.* 2013;2(9):362–8.

del Pilar Martínez-Diz M, Díaz-Losada E, Andrés-Sodupe M, Bujanda R, Maldonado-González MM, Ojeda S, et al. Field evaluation of biocontrol agents against black-foot and Petri diseases of grapevine. *Pest Manag Sci.* 2021;77(2):697–708.

Dietrich P, Cesarz S, Eisenhauer N, Roscher C. Effects of steam sterilization on soil abiotic and biotic properties. *Soil Org.* 2020;92(2):99–108.

Dixon DP. Glutathione S-transferases in plants: a role in the detoxification of xenobiotics. *J Exp Bot.* 1998;49(325):1–13.

Dobrosavljević B. LC-MS/MS analiza ostataka pesticida u paprikama [master's thesis]. Novi Sad: University of Novi Sad, Faculty of Agriculture; 2014.

Elmore CL, Katan J. Soil solarization: a sustainable approach to soil-borne disease management. *Annu Rev Phytopathol.* 1998;36:1–20.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Available from: <https://www.eppo.int/>

European Commission. Commission Regulation (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting data requirements for active substances under Regulation (EC) No 1107/2009. *Off J Eur Union.* 2013. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32013R0283>

European Commission. Commission Regulation (EU) No 547/2011 of 8 June 2011 on the implementation of Regulation (EC) No 1107/2009 with regard to labelling requirements for plant protection products. *Off J Eur Union.* 2011.



European Food Safety Authority (EFSA). Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment for plant protection products. *EFSA J.* 2014;12(10):3874.

European Food Safety Authority (EFSA). Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA J.* 2013;11(7):3290.

European Food Safety Authority (EFSA). Risk assessment for birds and mammals. *EFSA J.* 2009;7(12):1438.

European Parliament and Council of the European Union. Regulation (EC) No 1107/2009 on placing plant protection products on the market. *Off J Eur Union.* 2009 Nov 24.

European Parliament and Council. Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures. *Off J Eur Union.* 2008.

FIS Database. *List of registered plant protection products as of April 5, 2023.* Ministry of Agriculture of Croatia. Available from: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *FAO guidelines for pesticide formulation specifications.* 2nd ed. Rome: FAO; 2010. Available from: <http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/jmps/manual/en/>

Ghosh M. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons. *Environ Pollut.* 2008;155(2):225–37.

Glick BR. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv.* 2010;28(3):367–74.

Hossain MA. Phytoremediation: a green technology to remediate heavy metal-contaminated soil and water. In: Gupta DK, Sandalio LM, editors. *Heavy metal toxicity and tolerance in plants.* Berlin: Springer; 2012. p. 295–326.

Huang H, Zeng G, Liang J, Xu P, Zhang C. Long-term willows for phytoremediation of contaminated soil. *Environ Sci Pollut Res.* 2008;15(5):377–84.

Jabeen R, Ahmad A, Iqbal M. Phytoremediation of heavy metals using coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants. *Ecol Eng.* 2015;84:44–9.

Jamiołkowska A. Natural compounds as elicitors of plant resistance against diseases and new biocontrol strategies. *Agronomy.* 2020;10(2):173.



Kumar PBAN, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. Phytoextraction of heavy metals by Indian mustard. *Environ Sci Technol*. 2011;31(9):223–7.

Kumar S, Chhabra V, Bishnoi U. Translocation mechanism of heavy metal in plant roots: concepts and conflicts—a review. *Pharma Innov J*. 2022;7:2320–9.

Lamichhane JR, Dürr C, Schwanck AA, Robin MH, Sarthou JP, Cellier V, et al. Integrated management of damping-off diseases: a review. *Agron Sustain Dev*. 2017;37(2):10.

Lesueur C, Maestroni B. Comparison of QuEChERS-based methods for the analysis of 600 pesticides in fruit and vegetables using GC-MS/MS and LC-MS/MS. *10th Eur Pesticide Residue Workshop*, Dublin, Ireland; 2014. p. 130.

Li X, Zhang Y, Chen J, Wang Q. Soil-borne pathogens and global crop losses: challenges and advances. *Front Microbiol*. 2023;14:1182932.

Luvisi A, Panattoni A, Materazzi A. Heat treatments for sustainable control of soil viruses. *Agron Sustain Dev*. 2015;35(2):657–66.

McGrath SP, Zhao FJ. Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. In: Singh A, Ward OP, editors. *Bioremediation: theory and applications*. New York: Springer; 2003. p. 141–69.

McGrath SP. Phytoremediation of polluted soils: mechanisms and applications. *Int J Phytoremediation*. 2001;3(2):1–11.

Ministry of Agriculture, Republic of Croatia. *Manual for safe handling and application of plant protection products*. Zagreb: Ministry of Agriculture; 2014. Available from: [https://savjetodavna.mps.hr/wp-content/uploads/2018/11/Priru%C4%8Dnik-za-sigurno-rukovanje-i-primjenu-sredstava-za-za%C5%A1titu-bilja\\_9\\_2\\_2015.pdf](https://savjetodavna.mps.hr/wp-content/uploads/2018/11/Priru%C4%8Dnik-za-sigurno-rukovanje-i-primjenu-sredstava-za-za%C5%A1titu-bilja_9_2_2015.pdf)

Nazarov PA, Baleev DN, Ivanova MI, Sokolova LM, Karakozova MV. Infectious plant diseases: etiology, current status, problems and prospects in plant protection. *Acta Naturae*. 2020;12(3):46–59.

Newman LA, Reynolds CM. Phytodegradation of organic compounds. *Curr Opin Biotechnol*. 2004;15(3):225–30.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Maximum residue limit calculator. Available from: <https://www.oecd.org/en/data/tools/maximum-residue-limit-calculator.html>



Pandit MA, Kumar J, Gulati S, Bhandari N, Mehta P, Katyal R, et al. Major biological control strategies for plant pathogens. *Pathogens*. 2022;11(2):273.

Peer WA, Baxter IR, Richards EL, Freeman JL, Murphy AS. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In: Tamas MJ, Martinoia E, editors. *Molecular biology of metal homeostasis and detoxification: from microbes to man*. Berlin: Springer; 2005. p. 299–340.

Pietrini F. Mycorrhizal fungi and their role in the absorption of heavy metals. In: Varma A, editor. *Mycorrhizal symbiosis: plant nutrition*. Berlin: Springer; 2005. p. 69–83.

Prasad MNV. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques and applications. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2003;23(1):1–12.

Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o postupku registracije sredstava za zaštitu bilja. *Narodne novine*. 2009;119/2935.

Pravilnik o metodama uzorkovanja za provedbu službene kontrole ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog i životinjskog podrijetla. *Narodne novine*. 2008;77/2550.

Pravilnik o postupku registracije sredstava za zaštitu bilja. *Narodne novine*. 2007;57/1849.

Pravilnik o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija. *Narodne novine*. 2011;64/11.

Pravilnik o sastavu, djelokrugu i načinu rada Povjerenstva za sredstva za zaštitu bilja i ostatke sredstava za zaštitu bilja. *Narodne novine*. 2009;67/1603.

Punja ZK, Scott C, Lung S. Several *Pythium* species cause crown and root rot on cannabis (*Cannabis sativa* L.) plants grown under commercial greenhouse conditions. *Can J Plant Pathol*. 2022;44(1):66–81.

Ramón A. Soil steaming to reduce the incidence of soil-borne diseases, weeds and insects. *Missouri Produce Growers Bulletin*. 2020. Available from: <https://ipm.missouri.edu/mpg/2020/11/steaming-ra/>

Raskin I, Kumar PBAN, Dushenkov S, Salt DE. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr Opin Biotechnol*. 1994;5(3):285–90.

Scher S, Christensen FM, Wittmer IK, Stamm C, Singer H. Opinion on the toxicity and assessment of chemical mixtures. *Eur Comm Sci Comm Environ Health Risks*. 2012. Available from: [https://health.ec.europa.eu/document/download/d6ba67e3-15cf-4ee8-88d4-e856906857f6\\_en](https://health.ec.europa.eu/document/download/d6ba67e3-15cf-4ee8-88d4-e856906857f6_en)





Scott C, Punja ZK. Biological control of *Fusarium oxysporum* causing damping-off and *Pythium myriotylum* causing root and crown rot on cannabis (*Cannabis sativa* L.) plants. *Can J Plant Pathol.* 2023;45(3):238–52.

Sharma P. Cytochrome P450 enzymes and their role in the biodegradation of environmental contaminants. *Environ Toxicol Chem.* 2012;31(2):456–67.

Sidhu K. *Trichoderma*: a biopesticide. CABI BioProtection Portal. 2024. Available from: <https://bioprotectionportal.com/resources/trichoderma-a-biopesticide/>

Singh OV, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, Jain RK. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2003;61(5):405–12.

Smith SE, Read DJ. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd ed. London: Academic Press; 2008.

Thakur S, Singh L, Wahid ZA, Siddiqui MF, Atnaw SM, Din MF. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. *Environ Monit Assess.* 2016;188(4):206.

Trapp S, Legind CN. Uptake of organic contaminants from soil into vegetables and fruits. In: Swartjes FA, editor. *Dealing with contaminated sites: from theory towards practical application*. Dordrecht: Springer; 2010. p. 369–408.

Vamerali T, Bandiera M, Mosca G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land—a review. *Environ Chem Lett.* 2010;8(1):1–7.

Vangronsveld J, Cunningham SD, editors. *Phytoremediation of contaminated soils and water*. Totowa (NJ): Humana Press; 2009.

Vassilev A, Nikolova A, Koleva L, Licheva P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. In: Ahmad P, Prasad MNV, editors. *Soil remediation and plants: prospects and challenges*. Amsterdam: Elsevier; 2013. p. 161–86.

Vymazal J. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environ Sci Technol.* 2011;45(1):61–9.

Wittmer IK, Scheidegger R, Bader HP, Singer H, Stamm C. Loss rates of urban biocides can exceed those of agricultural pesticides. *Sci Total Environ.* 2011;409(5):920–32.

Woo SL, Hermosa R, Lorito M, Monte E. *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(5):312–26.



Zakon o održivoj uporabi pesticida. *Narodne novine*. 2014;14/14.

Zakon o provedbi Uredbe (EZ) br. 396/2005 o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla. *Narodne novine*. 2013;80/13.

Zhang D, Yan D, Cheng H, Fang W, Huang B, Wang X, et al. Effects of multi-year biofumigation on soil bacterial and fungal communities and strawberry yield. *Environ Pollut*. 2020;256:113415.

Zhao FJ. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils by plants: selection and evaluation. *Environ Sci Technol*. 2002;36(10):2322–7.

Ziedan ES. A review of the efficacy of biofumigation agents in the control of soil-borne plant diseases. *J Plant Prot Res*. 2022;62(1):1–10.



## **CAPITOLUL 2. REZISTENȚA ANTIMICROBIANĂ DIN SELECȚIA NATURALĂ EXACERBATĂ DE FACTORI UMANI ȘI METODE VERZI INOVATOARE DE COMBATERE**

### **2.1 Introducere**

Rezistența tot mai mare a bacteriilor la antibiotice, împreună cu frecvența crescândă a tratamentelor nereușite ale infecțiilor, evidențiază necesitatea urgentă de a identifica cauzele fundamentale ale acestei probleme și de a explora strategii pentru a o reduce și pentru a îmbunătăți rezultatele tratamentului. Un factor larg recunoscut care contribuie la eșecul tratamentului este presiunea selectivă exercitată de medicamente, în special atunci când antibioticele sunt alese necorespunzător sau administrate în doze subterapeutice. Acest lucru poate duce la supraviețuirea populațiilor bacteriene rezistente sau la activarea mecanismelor de rezistență [Cantón, 2011]. În consecință, este esențial ca antibioticele să fie utilizate în mod corespunzător—doar în infecțiile bacteriene confirmate și în doze care să maximizeze probabilitatea succesului terapeutic.

În stadiile incipiente ale infecției, în special în cazurile severe, terapia empirică este adesea inițiată. Aceasta implică selectarea unui antibiotic pe baza unor factori precum locul infecției, starea clinică a pacientului, istoricul medical, bolile concomitente și funcția organelor. Antibioticul ales trebuie să fie eficient împotriva celor mai probabili agenți patogeni, a căror prevalență și profiluri de sensibilitate sunt de obicei cunoscute din date epidemiologice derivate din analize retrospective ale numeroaselor studii microbiologice. Ori de câte ori este posibil, terapia antibiotică empirică ar trebui să fie precedată de recoltarea probelor pentru testare microbiologică. Rezultatele acestor teste servesc apoi la validarea deciziilor terapeutice inițiale și la ghidarea tranziției către terapia țintită. Astfel, constatările microbiologice oferă un sprijin solid pentru selectarea antibioticului optim atât în tratamentul empiric, cât și în cel țintit.

Identificarea corectă a agentului patogen, uneori incluzând cuantificarea pe gram sau mililitru de probă—combinată cu datele analitice și clinice, formează baza pentru diagnosticul definitiv al infecției. Antibioramele, pe de altă parte, oferă îndrumări



privind selectarea medicamentelor care se așteaptă să fie eficace clinic împotriva bacteriilor identificate. De obicei, antibiogramele includ evaluări calitative ale sensibilității sau rezistenței bacteriene, împreună cu informații despre mecanismele de rezistență detectate. Pentru multe infecții, astfel de date sunt suficiente pentru a întrerupe antibioticele ineficiente și pentru a le înlocui cu agenți la care bacteriile sunt sensibile.

Totuși, la pacienții grav bolnavi, cei cu infecții cronice, expunere extinsă anterioară la antibiotice sau antecedente de eșecuri terapeutice, este necesară o ghidare microbiologică mai precisă pentru a facilita selectarea optimă a antibioticelor. Două metode utilizate frecvent pentru a evalua sensibilitatea bacteriană sunt Testul de sensibilitate prin difuzie pe disc Kirby-Bauer și determinarea Concentrației Minime Inhibitorii (MIC). Metoda Kirby-Bauer este aplicată pe scară largă ca test standardizat, rentabil și rapid, de natură calitativă, care ghidează terapia empirică inițială. Ulterior, testarea MIC oferă o măsură mai precisă, cantitativă, a eficacității antibioticelor, fiind deosebit de valoroasă pentru personalizarea terapiei în infecțiile complexe sau rezistente. Deși determinarea MIC este de mult stabilită, în trecut a fost efectuată sporadic; totuși, în prezent este tot mai des inclusă în testele de rutină. Cu toate acestea, utilizarea practică a rezultatelor MIC pentru optimizarea terapiei rămâne limitată și, uneori, în ciuda costurilor mai mari comparativ cu metodele calitative, testarea MIC nu este utilizată pe deplin.

## 2.2 Tipuri de teste și protocoale de lucru

Testul Kirby-Bauer de difuzie pe disc pentru determinarea sensibilității antimicrobiene

### Istoric

Publicarea studiului despre penicilină de către Alexander Fleming în 1928 reprezintă o piatră de hotar în istoria medicinei. Pe măsură ce au fost descoperiți mai mulți compuși antimicrobieni, s-a prezis că bolile infecțioase vor fi eliminate prin utilizarea acestor antimicrobiene [Jorgensen et al., 2007]. Din nefericire, dezvoltarea rezistenței bacteriene la aceste antimicrobiene a diminuat rapid acest optimism și a



des la necesitatea ca medicii să solicite laboratorului de microbiologie testarea agentului patogen al pacientului împotriva diferitelor concentrații ale unui anumit antimicrobian pentru a determina sensibilitatea sau rezistența la acel medicament. Metoda originală de determinare a sensibilității la antimicrobiene se baza pe metodele de diluție în bulion [Jorgensen et al., 2007], care, deși reprezintă și astăzi standardul de aur, sunt consumatoare de timp. Acest lucru a determinat dezvoltarea unei proceduri de difuzie pe disc pentru determinarea sensibilității bacteriilor la antimicrobiene. Până la începutul anilor 1950, majoritatea laboratoarelor de microbiologie clinică din Statele Unite adoptaseră metoda de difuzie pe disc pentru determinarea sensibilității bacteriilor la antimicrobiene. Fiecare laborator a modificat procedura pentru a se adapta propriilor nevoi, incluzând utilizarea diferitelor tipuri de medii, concentrații de inocul, timp și temperatură de incubare, precum și concentrații diferite ale compusului antimicrobian. Interpretarea sensibilității și rezistenței se baza doar pe prezența sau absența unei zone de inhibiție în jurul discului, iar două sau trei concentrații diferite ale aceluiași antimicrobian erau testate în mod obișnuit împotriva agentului patogen [Bauer et al., 1959].

Mulți cercetători au publicat variații ale procedurii, rezultând în multiple protocoale care au dus la o confuzie generalizată [Bauer et al., 1959; Kirby et al., 1959]. În 1956, W. M. M. Kirby și colegii săi de la Facultatea de Medicină a Universității din Washington și de la Spitalul King County au propus o metodă cu un singur disc pentru testarea sensibilității antimicrobiene [Winn et al., 2006]. Lipsa standardizării în determinarea sensibilității bacteriene a continuat să fie o problemă la începutul anilor 1960. Kirby și colegul său, A. W. Bauer, au revizuit extensiv literatura privind testarea sensibilității. Ei au consolidat și actualizat toate descrierile anterioare ale metodei de difuzie pe disc și și-au publicat concluziile [Bauer et al., 1966]. Această publicație a determinat Organizația Mondială a Sănătății să formeze un comitet în 1961 pentru a pune bazele dezvoltării unei proceduri standardizate pentru testarea sensibilității antimicrobiene folosind un singur disc [Jorgensen et al., 2007].

Rezultatul a fost o procedură standardizată pentru testul de difuzie pe disc al sensibilității, denumit ulterior testul de difuzie pe disc Kirby-Bauer [Bauer et al., 1966]. În prezent, Institutul pentru Standarde de Laborator Clinic (CLSI) este responsabil





pentru actualizarea și modificarea procedurii originale a lui Kirby și Bauer printr-un proces de consens global. Acest lucru asigură uniformitatea tehnicii și reproductibilitatea rezultatelor, pe măsură ce agenții patogeni dezvoltă noi mecanisme de rezistență și se dezvoltă noi antimicrobiene pentru a combate aceste organisme. Ghidurile de interpretare pentru dimensiunile zonelor sunt incluse în publicațiile lor (CLSI, 2006). Publicația CLSI, *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard 9th Edition*, reprezintă standardul pentru laboratoarele clinice care efectuează testarea sensibilității în prezent.

### Scop

Scopul testului Kirby-Bauer de difuzie pe disc este de a determina sensibilitatea sau rezistența bacteriilor patogene aerobe și anaerobe facultative la diferiți compuși antimicrobieni, pentru a ajuta medicul să selecteze opțiunile de tratament pentru pacienții săi. Organismul patogen este crescut pe agar Mueller-Hinton în prezența diferitelor discuri de hârtie de filtru impregnate cu antimicrobiene. Prezența sau absența creșterii în jurul discurilor reprezintă o măsură indirectă a capacității celui compus de a inhiba organismul respectiv.

### Teorie

Determinarea rezistenței bacteriene la antimicrobiene este o parte importantă a gestionării infecțiilor la pacienți. Metoda de difuzie pe disc Kirby-Bauer a fost standardizată și reprezintă o alternativă viabilă la metodele de diluție în bulion pentru laboratoarele care nu dispun de resurse pentru a utiliza metodele automate mai noi de microdiluție în bulion. Atunci când un disc de hârtie de filtru de 6 mm impregnat cu o concentrație cunoscută de compus antimicrobian este plasat pe o placă de agar Mueller-Hinton (MH), apa este imediat absorbită în disc din agar. Antimicrobianul începe să difuzeze în agarul înconjurător. Rata de difuzie prin agar nu este la fel de rapidă ca rata de extragere a antimicrobianului din disc, prin urmare concentrația antimicrobianului este cea mai mare în apropierea discului și are loc o reducere logaritmică a concentrației pe măsură ce distanța față de disc crește [Jorgensen et al., 2007].

Rata de difuzie a antimicrobianului prin agar depinde de proprietățile de difuzie și solubilitate ale medicamentului în agarul MH [Bauer et al., 1966] și de greutatea



moleculară a compusului antimicrobian. Moleculele mai mari vor difuza mai lent decât compușii cu greutate moleculară mai mică. Acești factori, combinați, duc la faptul că fiecare antimicrobian are o dimensiune unică a zonei de întrerupere (breakpoint) care indică sensibilitatea la acel compus antimicrobian.

Dacă placa de agar a fost inoculată cu o suspensie a agentului patogen care urmează să fie testat înainte de plasarea discurilor pe suprafața agarului, are loc simultan creșterea bacteriilor și difuzia compușilor antimicrobieni. Creșterea are loc în prezența unui compus antimicrobian atunci când bacteriile ating o masă critică și pot contracara efectele inhibitorii ale compusului. Timpul estimat pentru ca o suspensie bacteriană să atingă masa critică este de 4 până la 10 ore pentru cei mai frecvent izolați agenți patogeni, dar este caracteristic fiecărei specii și este influențat de mediul de cultură și temperatura de incubare [Jorgensen et al., 2007].

Dimensiunea zonei de inhibiție a creșterii este influențată de adâncimea agarului, deoarece antimicrobianul difuzează în trei dimensiuni; astfel, un strat subțire de agar va produce o zonă de inhibiție mai mare decât un strat mai gros. Punctul în care se atinge masa critică este demonstrat printr-un cerc clar delimitat de creștere bacteriană în jurul discului. Concentrația compusului antimicrobian la această margine se numește concentrație critică și este aproximativ egală cu concentrația minimă inhibitorie obținută în testele de sensibilitate prin diluție în bulion.

Dimensiunea zonei observate într-un test de difuzie pe disc nu are nicio semnificație de una singură [Jorgensen et al., 2007]. Interpretarea rezistenței și sensibilității la antimicrobiene este determinată prin testare *in vivo* a sângelui și urinei pentru a calcula nivelul obținut al unui anumit antimicrobian care duce la rezolvarea unei infecții. Aceste informații sunt corelate cu dimensiunile zonelor, rezultând standardele de interpretare. Standardele actuale de interpretare pot fi găsite în publicația *Clinical Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standards 9th Edition* [CLSI, 2006].



## METODĂ

|                                                |                    |
|------------------------------------------------|--------------------|
| Ser fiziologic steril în tuburi de 2 mL        | 18-24 ore          |
| 0.5 McFarland standard                         | Vortex             |
| Card Wickerham                                 | Bețe sterile       |
| Plăci de agar Mueller-Hinton, 100 mm or 150 mm | Inoculare          |
| Șubler sau riglă discuri antibiotic            | Bact-cinerator     |
| Pensete                                        | Tampoane cu alcool |
| Distribuitor de discuri antibiotice (optional) | 35°C până la 37°C  |

<sup>a</sup> Organismele recomandate pentru scopuri de asigurare a calității sunt *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (nivel de biosecuritate (BSL) 2), *Escherichia coli* ATCC 25922 (BSL 1) și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (BSL 2) ([www.atcc.org](http://www.atcc.org)), deoarece dimensiunea zonei de inhibiție pentru aceste organisme este cunoscută. Deoarece dimensiunile zonelor sunt cunoscute pentru aceste organisme, ele sunt recomandate pentru utilizarea în mediul educațional, deși utilizarea tulpinilor necunoscute ar trebui, de asemenea, integrată în experiența educațională. Pentru testele de control al calității, dimensiunile zonelor pentru aceste trei organisme pot fi găsite în prospectul oricărui disc antimicrobian achiziționat.

<sup>b</sup> Selecția antimicrobianului se bazează pe tipul de organism testat și pe sursa izolatului (sânge, urină, rană etc.). Se consultă Tabelele de Standarde de Interpretare pentru antimicrobienii sugerați care trebuie utilizați.

### Note suplimentare

#### Agar Mueller-Hinton

Agarul MH este considerat cel mai bun mediu pentru testarea de rutină a sensibilității bacteriilor non-fastidioase din următoarele motive:

- Prezintă o reproductibilitate acceptabilă între loturi pentru testarea sensibilității
- Este sărac în inhibitori ai sulfonamidelor, trimetoprimului și tetraciclinelor



- Susține creșterea satisfăcătoare a majorității agenților patogeni non-fastidioși
- A fost acumulat un volum mare de date și experiență privind testele de sensibilitate efectuate cu acest mediu [Winn et al., 2006].

A se reține faptul că utilizarea altor medii decât agarul Mueller-Hinton poate duce la rezultate eronate. De asemenea, trebuie reținut că doar bacteriile aerobe sau facultative care cresc bine pe agar MH nesuplimentat ar trebui testate folosind acest protocol. Organismele fastidioase necesită agar MH suplimentat cu nutrienți adiționali și modificarea acestui protocol. Nici suplimentele, nici modificările procedurale nu sunt discutate în acest protocol de bază.

Agarul MH poate fi achiziționat sub formă de plăci pregătite de la Remel (Lenexa, KS), BD BBL (Franklin Lakes, NJ) sau orice alt furnizor de plăci de agar gata preparate. Urmați recomandările producătorului privind depozitarea plăcilor preparate. Agarul MH poate fi, de asemenea, preparat din medii deshidratate disponibile de la companii precum Remel, BD BBL sau alți furnizori de medii deshidratate. Este necesară asigurarea că mediul este preparat conform instrucțiunilor producătorului.

Formulă pentru agar Mueller-Hinton per litru de apă purificată [DIFCO 1984]  
Infuzie de carne de vită 300,0 g

Cas aminoacizi, tehnici 17,5 g

Amidon 1,5 g

Agar 17,0 g

Se suspendă componentele enumerate mai sus în 1 litru de apă purificată. Se amestecă bine. Se încălzește cu agitație frecventă și se fierbe timp de 1 minut pentru a dizolva complet componentele. Urmează autoclavarea la 121°C timp de 15 minute și distribuirea după dorință. Se lasă să se solidifice la temperatura camerei, apoi se depozitează la 4-8°C. Agarul Mueller-Hinton este stabil aproximativ 70 de zile (conform Remel Technical Services, 1 septembrie 2009) de la data preparării. Fiecare laborator ar trebui să verifice calitatea și funcționalitatea fiecărui lot de medii preparate testând tulpini cunoscute de organisme împotriva fiecărui compus antimicrobian utilizat, pe măsură ce se apropie termenul de 70 de zile.



- Dacă se prepare plăcile de agar MH din medii deshidratate, acestea trebuie turnate la o adâncime de 4 mm (aproximativ 25 mL de agar lichid pentru plăci de 100 mm și 60 ml pentru plăci de 150 mm, dar în orice caz la o adâncime măsurată de 4 mm). Plăcile prea subțiri vor produce rezultate fals sensibile, deoarece compusul antimicrobian va difuza mai mult decât ar trebui, creând zone mai mari de inhibiție. În schimb, plăcile turnate la o adâncime >4 mm vor produce rezultate fals rezistente.
- pH-ul agarului MH trebuie să fie între 7,2 și 7,4 la temperatura camerei după solidificare și trebuie testat la prima preparare a mediului. Dacă pH-ul depășește 7,4, pot apărea rezultate opuse.
- Excesul de timidină sau timină poate inversa efectele inhibitorii ale sulfonamidelor și trimetoprimului, rezultând zone de inhibiție mai mici, mai puțin clare sau absente.
- Concentrația incorectă de cationi divalenți (calciu și magneziu) va afecta rezultatele testelor cu aminoglicozide și tetracicline împotriva *Pseudomonas aeruginosa*. O concentrație excesivă de cationi va reduce dimensiunea zonelor, iar o concentrație scăzută o va mări. Excesul de calciu va mări zona de inhibiție a *P. aeruginosa* împotriva daptomicinei. Excesul de ioni de zinc poate reduce dimensiunea zonei de inhibiție a carbapenemelor împotriva *P. aeruginosa*.
- Agarul MH trebuie testat cu tulpini cunoscute de organisme cel puțin o dată pe săptămână pentru a verifica dacă mediul și discurile funcționează conform așteptărilor.

#### Discuri de sensibilitate la antibiotic

Discurile antimicrobiene pot fi achiziționate de la orice furnizor de încredere, cum ar fi Remel, Oxoid sau BD BBL. Ele sunt ambalate în cartușe cu arc, conținând 25 sau 50 de discuri, și pot fi comandate individual sau în pachete de 10 cartușe. Depozitarea corectă a acestor discuri este esențială pentru obținerea unor rezultate reproductibile.

Cartușele sigilate care conțin discuri de hârtie preparate comercial trebuie păstrate fie la 8°C, fie congelate la -14°C într-un congelator fără sistem automat de dezghețare.





Se lasă discurile să ajungă la temperatura camerei înainte de a îndepărta ambalajul de protecție din plastic. Odată deschise, se păstrează cartușele într-un recipient de depozitare care conține desicant, pentru cel mult o săptămână.

Distribuitoare semiautomate de discuri sunt disponibile de la companii precum Remel, Oxoid și BD BBL. Se ține cont că, cartușele de discuri de la o companie pot să nu se potrivească în distribuitorul alteia.



Figura 2.1 Exemple de antibiotice

Distribuitoare semiautomate de discuri sunt disponibile de la companii precum Remel, Oxoid și BD BBL. Trebuie avut în vedere că cartușele de discuri de la o companie pot să nu fie compatibile cu distribuitorul altei companii.



Figura 2.2 Distribuitoare semiautomate de discuri

### Standardul McFarland

Standardele McFarland sunt suspensii de sulfat de bariu sau particule de latex care permit compararea vizuală a densității bacteriene. Standardele preparate comercial sunt disponibile pentru achiziționare de la companii precum Remel sau BD BBL. Acestea includ adesea un card Wickerham, care este un mic card ce conține linii negre paralele. Un standard McFarland 0.5 este echivalent cu o suspensie bacteriană ce conține între  $1 \times 10^8$  și  $2 \times 10^8$  UFC/mL de *E. coli*.

Un standard McFarland 0.5 poate fi preparat în laborator, conform instrucțiunilor de mai jos.

1. Se adaugă un aliquot de 0,5 mL dintr-o soluție de 0,048 mol/litru  $\text{BaCl}_2$  (1,175% greutate/volum  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) la 99,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,18 mol/litru (1% volum/volum), amestecând constant pentru a menține suspensia.



2. Se verifică densitatea corectă a standardului de turbiditate prin măsurarea absorbției folosind un spectrofotometru cu o cuvetă potrivită și o cale optică de 1 cm. Absorbanța la 625 nm ar trebui să fie între 0,08 și 0,13 pentru standardul McFarland 0.5.
3. Se transferă suspensia de sulfat de bariu în aliquote de 4 până la 6 mL în tuburi cu capac filetat, de aceeași dimensiune cu cele utilizate pentru standardizarea inoculului bacterian.
4. Se sigilează bine tuburile și se depozitează la întuneric, la temperatura camerei.

#### Utilizarea standardului McFarland în procedura Kirby-Bauer

1. Înainte de utilizare, se agită energic standardul de sulfat de bariu pe un mixer vortex mecanic și se face verificarea dacă are un aspect uniform tulbure. Se înlocuiește standardul dacă apar particule mari. Dacă se utilizează un standard compus din particule de latex, se amestecă prin inversare ușoară, nu pe mixerul vortex.
2. Pe măsură ce studentul adaugă colonii bacteriene la soluția salină în pasul „pregătirea inoculului” al procedurii, acesta trebuie să compare suspensia rezultată cu standardul McFarland. Acest lucru se face ținând atât standardul, cât și tubul cu inocul unul lângă celălalt, la cel mult 2,5 cm de fața cardului Wickerham (cu o sursă de lumină adecvată) și comparând aspectul liniilor prin ambele suspensii. Nu se țin tuburile lipite de card.

Dacă suspensia bacteriană pare mai deschisă decât standardul McFarland 0.5, trebuie adăugate mai multe organisme în tub din placa de cultură. Dacă suspensia pare mai densă decât standardul McFarland 0.5, trebuie adăugată soluție salină suplimentară în tubul cu inocul pentru a dilua suspensia la densitatea corespunzătoare. În unele cazuri, poate fi mai ușor să se reia procedura de la început decât să se continue diluarea unei suspensii bacteriene prea dense pentru utilizare.



Figura 2.3 Măsurarea densității

## PROTOCOL

### Pregătirea plăcii Mueller-Hinton

1. Se lasă o placă de agar MH (una pentru fiecare organism care urmează să fie testat) să ajungă la temperatura camerei. Este preferabil ca plăcile să rămână în manșonul de plastic în timp ce se încălzesc, pentru a minimiza condensul.
2. Dacă suprafața agarului prezintă lichid vizibil, se așează placa inversată, ușor deschisă pe capac, pentru a permite scurgerea excesului de lichid de pe suprafața agarului și evaporarea acestuia. Plăcile pot fi plasate într-un incubator la 35°C sau într-o hotă cu flux laminar la temperatura camerei până se usucă (de obicei între 10 și 30 de minute).

Se etichetează corespunzător fiecare placă de agar MH pentru fiecare organism care urmează să fie testat.

### Pregătirea inoculului

1. Folosind o ansă sau un ac steril de inoculare, se ating patru sau cinci colonii izolate ale organismului care urmează să fie testat.



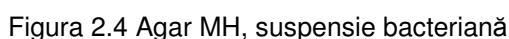
2. Se suspendă organismul în 2 mL de soluție salină sterilă.
3. Se amestecă tubul cu soluție salină pe vortex pentru a obține o suspensie omogenă.
4. Se ajustează turbiditatea acestei suspensii la standardul McFarland 0.5, adăugând mai multe organisme dacă suspensia este prea deschisă sau diluând cu soluție salină sterilă dacă suspensia este prea concentrată.
5. Se utilizează această suspensie în decurs de 15 minute de la preparare.

#### Note suplimentare

##### Pregătirea inoculului

Organismele care urmează să fie testate trebuie să se afle în faza logaritmică de creștere pentru ca rezultatele să fie valide. Se recomandă ca subculturi ale organismelor care urmează să fie testate să fie realizate în ziua anterioară. Nu se utilizează niciodată extreme de densitate a inoculului. Nu se utilizează niciodată culturi de bulion peste noapte nediluate sau alte inoculuri nestandardizate pentru inocularea plăcilor.

Dacă organismul este dificil de suspendat direct într-o suspensie omogenă, trebuie utilizată metoda de creștere pentru prepararea inoculului. Totuși, organismele recomandate în această procedură produc toate suspensii omogene cu dificultate minimă. Se consultă documentul *Clinical Laboratory Standards Institute* [CLSI 2006] pentru metoda de creștere utilizată la prepararea inoculului, dacă este necesar.



1. Se introduce un tampon steril în tubul cu inocul.
2. Se rotește tamponul pe marginea interioară a tubului (deasupra nivelului lichidului), aplicând o presiune fermă pentru a îndepărta excesul de lichid. Tamponul nu trebuie să fie ud picurând.
3. Se inoculează suprafața uscată a unei plăci de agar MH prin însămânțare cu tamponul de trei ori pe întreaga suprafață a agarului; rotiți placa aproximativ 60 de grade de fiecare dată pentru a asigura o distribuție uniformă a inoculului.
4. Se trece tamponul de jur împrejurul marginii plăcii pentru a prelua orice exces de lichid.
5. Se aruncă tamponul într-un recipient adecvat.
6. Lăsând capacul ușor întredeschis, se permite plăcii să stea la temperatura camerei cel puțin 3 până la 5 minute, dar nu mai mult de 15 minute, pentru ca suprafața agarului să se usuce înainte de a trece la pasul următor.



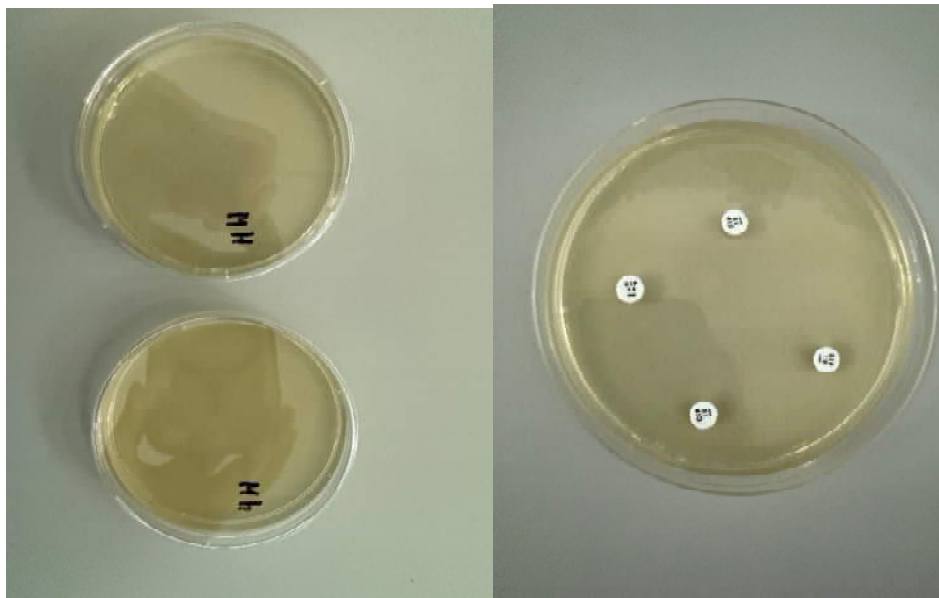


Figura 2.5 Plăci MH, aplicarea ATB

### Plasarea discurilor cu antibiotice

1. Se așează discurile adecvate impregnate cu antimicrobiene pe suprafața agarului, folosind fie o pensetă pentru a dispensa fiecare disc antimicrobian pe rând, fie un distribuitor multidisc pentru a dispensa mai multe discuri simultan. (Se consultă pașii a–d pentru utilizarea distribuitorului multidisc sau pașii e–g pentru plasarea individuală a discurilor cu penseta).
  - a. Pentru a utiliza un distribuitor multidisc, se așează placa de agar MH inoculată pe o suprafață plană și se îndepărtează capacul.
  - b. Se așează distribuitorul deasupra plăcii de agar și se apasă ferm pistonul o dată pentru a dispensa discurile pe suprafața plăcii.
  - c. Se ridică distribuitorul de pe placă și, folosind o pensetă sterilizată fie prin curățare cu un tampon cu alcool, fie prin flambare cu alcool izopropilic, se atinge fiecare disc de pe placă pentru a fi asigurat contactul complet cu suprafața agarului. Acest lucru trebuie făcut înainte de a pune la loc capacul plăcii Petri, deoarece electricitatea statică poate determina discurile să se deplaseze pe suprafața agarului sau să se lipească de capac.



d. Nu se mișcă un disc după ce acesta a atins suprafața agarului, chiar dacă nu este poziționat corect, deoarece o parte din substanța medicamentoasă începe să difuzeze imediat după contactul cu agarul.

e. Pentru a adăuga discuri pe rând pe placa de agar folosind penseta, se așează placa MH pe șablonul furnizat în această procedură. Se sterilizează penseta prin curățare cu un tampon steril cu alcool și lăsând-o să se usuce la aer sau scufundând penseta în alcool și apoi aprinzând-o.

f. Folosind penseta, se îndepărtează cu grijă un disc din cartuș.

g. Se îndepărtează parțial capacul plăcii Petri. Se așează discul pe placă, deasupra unuia dintre punctele întunecate de pe șablon, și se apasă ușor discul cu penseta pentru a asigura contactul complet cu suprafața agarului. Se pune capacul la loc pentru a minimiza expunerea suprafeței agarului la aerul din încăpere.

h. Se continua plasarea a câte un disc pe suprafața agarului până când toate discurile au fost așezate conform instrucțiunilor din pașii f și g de mai sus.

2. După ce toate discurile sunt așezate, se pune capacul, se întorc plăcile cu susul în jos și se plasează într-un incubator cu aer la 35°C pentru 16 până la 18 ore. La testarea *Staphylococcus* împotriva oxacilinei sau vancomicinei, sau *Enterococcus* împotriva vancomicinei, se face incubare timp de 24 de ore complete înainte de citirea rezultatelor.

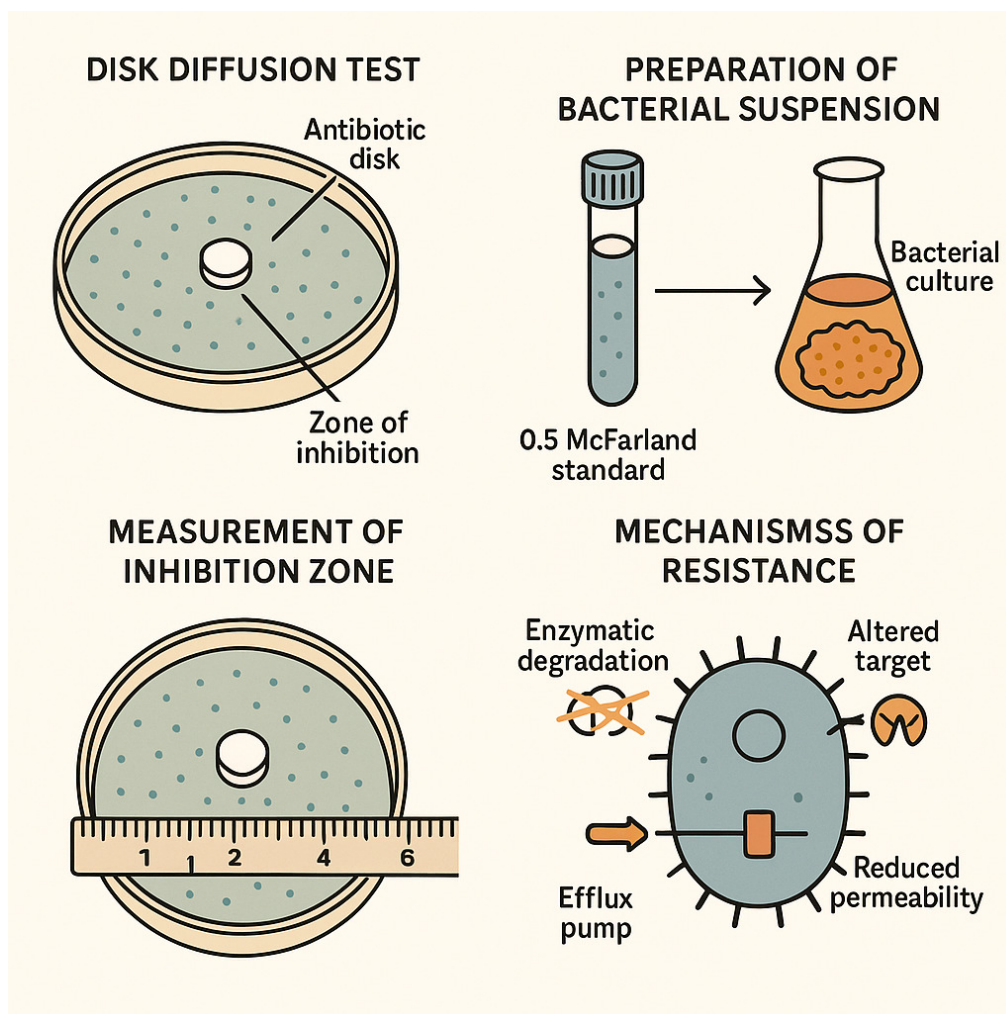


Figura 2.6 Schemă a metodei difuziei pe disc

## Note suplimentare

### Plasarea discurilor

Discurile nu trebuie plasate la o distanță mai mică de 24 mm (de la centru la centru) pe placa de agar MH. În mod normal, nu ar trebui plasate mai mult de 12 discuri pe o placă de 150 mm sau mai mult de 5 discuri pe o placă de 100 mm. Cu toate acestea, distribuitorii semiautomate de discuri pot conține 16 și respectiv 8 discuri și este posibil să nu mențină distanța recomandată de 24 mm de la centru la centru. Șablonul furnizat în acest protocol menține distanța recomandată de 24 mm de la centru la centru și permite plasarea a până la 8 discuri pe placă.



Trebuie evitată plasarea discurilor aproape de marginea plăcii, deoarece zonele nu vor fi complet circulare și pot fi dificil de măsurat.

Fiecare disc trebuie apăsat cu penseta pentru a asigura contactul complet cu suprafața agarului, altfel pot apărea forme neregulate ale zonelor.

Dacă suprafața agarului este perturbată în orice fel (un disc care pătrunde în suprafață, linii vizibile din cauza presiunii excesive a tamponului asupra plăcii în timpul inoculării etc.), forma zonei poate fi afectată.

Când se imprimă șablonul pentru utilizare în laboratorul de microbiologie, se face asigurarea că diametrul cercului de pe șablon are aceeași dimensiune cu plăcile de agar Mueller-Hinton folosite în laborator (100 mm). Funcția „micșorare” sau „mărire” de pe o fotocopitoare poate fi utilizată pentru a ajusta dimensiunea șablonului, dacă este necesar. De asemenea, se poate realiza propriul șablon desenând un cerc în jurul unei plăci de agar MH pe o coală de hârtie. Se adaugă marcajele de plasare în funcție de numărul de discuri care se intenționează a fi utilizate în sesiunea de laborator, menținând distanțele recomandate menționate mai sus.

#### Incubarea plăcilor

Este necesar un interval de temperatură de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

De reținut că temperaturile peste  $35^{\circ}\text{C}$  pot împiedica detectarea *Staphylococcus* rezistent la metilicilină.

Nu se incubează plăcile în  $\text{CO}_2$ , deoarece acest lucru va scădea pH-ul agarului și va duce la erori datorate unui pH incorect al mediului.

Rezultatele pot fi citite după 18 ore de incubare, cu excepția cazurilor în care se testează *Staphylococcus* împotriva oxacilinei sau vancomicinei, ori *Enterococcus* împotriva vancomicinei. Se citesc rezultatele pentru celelalte discuri antimicrobiene, apoi se reincubează placa pentru un total de 24 de ore înainte de a raporta vancomicina sau oxacilina.



## Măsurarea dimensiunilor zonelor

1. După incubare, se măsoară dimensiunile zonelor la cel mai apropiat milimetru folosind o riglă sau un șubler; se include diametrul discului în măsurătoare.
2. Când se măsoară diametrele zonelor, se face rotunjirea întotdeauna în sus la următorul milimetru.
3. Toate măsurătorile se fac cu ochiul liber, privind partea inferioară a plăcii Petri. Se ține placa la câțiva centimetri deasupra unei suprafețe negre, ne-reflectorizante, iluminată cu lumină reflectată.
4. Privirea trebuie să fie perpendiculară, pe o linie verticală directă, pentru a evita erorile de paralaxă care pot duce la citiri incorecte.
5. Se notează dimensiunea zonei pe fișa de înregistrare.
6. Dacă plasarea discului sau dimensiunea zonei nu permite citirea diametrului complet, se face măsurătoarea de la centrul discului până la punctul de pe circumferința zonei unde există o margine clară (raza) și se înmulțește valoarea cu 2 pentru a obține diametrul.
7. Creșterea bacteriană până la marginea discului poate fi raportată ca o zonă de 0 mm.
8. Organisme precum *Proteus mirabilis*, care formează pelicule de tip „swarm”, trebuie măsurate diferit față de organismele care nu formează astfel de structuri. Se ignore pelicula subțire de răspândire și se măsoară marginea exterioară a unei zone de inhibiție clar vizibile.
9. Coloniile distincte, izolate, în interiorul unei zone evidente de inhibiție nu trebuie considerate drept „swarming”. Aceste colonii sunt fie mutanți mai rezistenți la medicamentul testat, fie cultura nu a fost pură și reprezintă un alt organism. Dacă, prin repetarea testului, fenomenul se repetă, organismul trebuie considerat rezistent la acel medicament.



## Măsurarea dimensiunilor zonelor

Dacă placa a fost inoculată corect și toate celelalte condiții au fost respectate, zonele de inhibiție ar trebui să fie uniform circulare și va exista un covor continuu de creștere bacteriană. Dacă sunt vizibile colonii individuale pe placă, inoculul a fost prea slab și testul trebuie repetat.

Marginea zonei trebuie considerată zona care nu prezintă o creștere vizibilă, detectabilă cu ochiul liber. Nu se folosesc dispozitive de mărire pentru observarea marginilor zonelor.

Când se măsoară zona de inhibiție pentru organisme care se răspândesc (de exemplu, *Proteus sp.*), se ignore pelicula subțire de creștere dintr-o zonă clar evidentă de inhibiție.

În cazul trimetoprimului și al sulfonamidelor, antagoniștii din mediu pot permite o ușoară creștere; prin urmare, se ignore o creștere ușoară (până la 20% din covorul de creștere) și se măsoară marginea mai evidentă pentru a determina diametrul zonei [CLSI, 2006].

## Sfaturi practice și măsuri de siguranță

### Sfaturi practice pentru începători

- Contaminare: Se asigură întotdeauna sterilitatea instrumentelor, mediilor și suprafețelor de lucru. Contaminarea poate duce la rezultate neclare sau incorecte, cum ar fi creșteri neașteptate în interiorul zonelor de inhibiție sau în afara zonelor inoculate. Se lucrează într-o hotă cu flux laminar ori de câte ori este posibil și se utilizează pipete și mănuși sterile.
- Pregătirea inoculului: O densitate incorectă a inoculului duce la interpretări eronate. Un inocul prea dens poate reduce dimensiunile zonelor de inhibiție, în timp ce un inocul prea diluat le poate mări. Se compară întotdeauna suspensia bacteriană cu standardul McFarland 0.5 și se face ajustarea după necesitate.
- Depozitarea discurilor cu antibiotice: Se păstrează discurile în ambalajul original la 2–8 °C într-un mediu uscat. Se evită congelarea și dezghețarea repetată. Depozitarea





necorespunzătoare poate duce la pierderea potenței antibioticelor și la rezultate inexacte.

- Semne ale testelor invalide:

- Distribuție bacteriană neuniformă pe agar (aglomerări sau spații vizibile).
- Zone de inhibiție neclare, estompate sau cu forme neregulate.
- Schimbări de culoare ale mediului după inoculare sau incubare.
- Discuri care nu aderă corect la suprafața agarului sau își schimbă poziția.
- Măsuri de siguranță

- Niveluri de biosiguranță (BSL): Se determină nivelul de biosiguranță necesar în funcție de microorganism (BSL-1 până la BSL-3). Se folosesc echipamente de protecție, mănuși și respiratoare conform reglementărilor atunci când sunt manipulate bacterii patogene.

- Manipularea materialelor infecțioase: Se manipulează toate probele și culturile cu maximă precauție pentru a preveni expunerea sau răspândirea agenților patogeni.

- Eliminarea deșeurilor: Se elimină pipetele, ansele de inoculare, plăcile și materialele contaminate conform protocoalelor instituționale, de obicei prin autoclavare sau dezinfecție chimică.

- Echipament individual de protecție (EIP): Se utilizează întotdeauna mănuși, ochelari de protecție și halat de laborator. Pentru procedurile care generează aerosoli sau lucrul cu agenți patogeni cu risc ridicat, se utilizează viziere și se lucrează în cabine de biosiguranță.

## **Interpretarea și raportarea rezultatelor**

Interpretarea precisă a rezultatelor testării susceptibilității la antibiotice este esențială pentru ghidarea unei terapii antimicrobiene eficiente. Atât metoda de difuzie pe disc Kirby-Bauer, cât și determinarea MIC oferă informații esențiale privind susceptibilitatea sau rezistența agenților patogeni bacterieni la antibiotice. Citirea și raportarea corectă



asigură faptul că medicii aleg cel mai potrivit tratament, minimizând eșecurile terapeutice și reducând dezvoltarea rezistenței.

### 1. Utilizarea ghidurilor CLSI

Folosind ghidurile publicate de CLSI, se determină susceptibilitatea sau rezistența organismului la fiecare medicament testat (a se vedea Tabelele 2.1, 2.2 și 2.3). Aceste ghiduri oferă valori specifice de referință (diametre ale zonelor pentru difuzia pe disc și valori MIC pentru diluția în bulion) pentru diverse specii bacteriene și agenți antimicrobieni. Se notează că diferiți agenți patogeni necesită criterii interpretative diferite, de aceea este esențial să se consulte tabelul corect pentru fiecare agent testat. Tabelele abreviate furnizate sunt adaptate pentru organismele sugerate de autor și pentru discurile antimicrobiene adecvate utilizării educaționale și de rutină.

### 2. Înregistrarea rezultatelor

Pentru fiecare agent antimicrobian testat, se indică pe fișa de înregistrare dacă dimensiunea măsurată a zonei de inhibiție sau valoarea MIC clasifică izolatul ca sensibil (S), intermediar (I) sau rezistent (R). Această clasificare simplifică comunicarea și luarea deciziilor, asigurând o orientare clară pentru tratamentul clinic. Înregistrarea precisă a acestor categorii este esențială pentru interpretarea fiabilă a datelor și pentru analize epidemiologice ulterioare.

### 3. Raportarea către clinicieni

Doar categoriile interpretative calitative (S, I, R) din testul de difuzie pe disc Kirby-Bauer sunt, de obicei, raportate medicilor, nu măsurătorile brute ale diametrelor zonelor. Această practică previne interpretarea greșită a datelor brute și facilitează deciziile terapeutice standardizate. Valorile MIC, deși mai cantitative, sunt de asemenea interpretate conform valorilor de referință și raportate în același format calitativ pentru relevanță clinică.

### 4. Discuri antimicrobiene și dimensiuni de zonă recomandate

Un set sugerat de discuri antibiotice este oferit pentru mediile educaționale pentru a minimiza varietatea de antimicrobiene necesare testării diferitelor grupuri bacteriene. Selectarea discurilor adecvate conform recomandărilor CLSI asigură



reproductibilitatea și relevanța rezultatelor. Cadrele didactice și personalul de laborator pot modifica selecția discurilor în funcție de epidemiologia locală, disponibilitate și nevoile clinice specifice. Utilizarea constantă a discurilor recomandate susține comparabilitatea rezultatelor între laboratoare și de-a lungul timpului.

Tabelul 2.1 Standarde interpretative ale diametrului zonelor pentru speciile de *Staphylococcus* [CLSI 2006]]

| <b>Specii <i>Staphylococcus</i></b><br><b>(diametrul zonei, rotunjit la cel mai apropiat mm întreg)</b> |           |             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------------|-----------|
|                                                                                                         | Rezistent | Intermediar | Susceptil |
| Cefazolin (30 µg)                                                                                       | ≤ 14      | 15-17       | ≥ 18      |
| Clindamycin (2 µg)                                                                                      | ≤ 14      | 15-20       | ≥ 21      |
| Erythromycin (15 µg)                                                                                    | ≤ 13      | 14-22       | ≥ 23      |
| Gentamicin (10 µg)                                                                                      | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |
| Oxacillin (1 µg)                                                                                        | ≤ 10      | 11-12       | ≥ 13      |
| Penicillin G (10 µg)                                                                                    | ≤ 28      | --          | ≥ 29      |
| Tobramycin (10 µg)                                                                                      | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |
| Vancomycin (30 µg)                                                                                      | --        | --          | ≥ 15      |

Tabelul 2.2 Standarde interpretative ale diametrului zonelor pentru *Pseudomonas aeruginosa* și alți bacili gram-negativi nefermentativi [CLSI 2006]

***Pseudomonas aeruginosa* și alți bacili gram-negativi nefermentativi**  
**(diametrul zonei, rotunjit la cel mai apropiat mm întreg)**

|                       | Rezistent | Intermediar | Susceptil |
|-----------------------|-----------|-------------|-----------|
| Amikacin (30 µg)      | ≤ 14      | 15-16       | ≥ 17      |
| Cefoperazone (75 µg)  | ≤ 15      | 16-20       | ≥ 21      |
| Cefotaxime (30 µg)    | ≤ 14      | 15-22       | ≥ 23      |
| Gentamicin (10 µg)    | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |
| Piperacillin (100 µg) | ≤ 17      | ..          | ≥ 18      |
| Tetracycline (30 µg)  | ≤ 14      | 15-18       | ≥ 19      |
| Ticarcillin (75 µg)   | ≤ 14      | --          | ≥ 15      |
| Tobramycin (10 µg)    | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |



Tabelul 2.3 Standarde interpretative ale diametrului zonelor pentru *E. coli* și alți bacili gram-negativi enterici [CLSI 2006]

| <b><i>Escherichia coli</i> și alți bacili gram-negativi</b><br><b>(diametrul zonei, rotunjit la cel mai apropiat mm întreg)</b> |           |             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------------|-----------|
|                                                                                                                                 | Rezistent | Intermediar | Susceptil |
| Amikacin (30 µg)                                                                                                                | ≤ 14      | 15-16       | ≥ 17      |
| Ampicillin (10 µg)                                                                                                              | ≤ 13      | 14-16       | ≥ 17      |
| Cefazolin (30 µg)                                                                                                               | ≤ 14      | 15-17       | ≥ 18      |
| Gentamicin (10 µg)                                                                                                              | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |
| Tetracycline (30 µg)                                                                                                            | ≤ 14      | 15-18       | ≥ 19      |
| Ticarcillin (75 µg)                                                                                                             | ≤ 14      | 15-19       | ≥ 20      |
| Trimethoprim (5 µg)                                                                                                             | ≤ 10      | 11-15       | ≥ 16      |
| Tobramycin (10 µg)                                                                                                              | ≤ 12      | 13-14       | ≥ 15      |

#### Interpretarea rezultatelor testului de difuzie pe disc Kirby-Bauer

Metoda de difuzie pe disc Kirby-Bauer determină susceptibilitatea bacteriană prin măsurarea diametrului zonei de inhibiție în jurul discurilor cu antibiotice plasate pe plăci cu agar inoculate cu organismul testat.

#### Măsurare:

După incubare (de obicei 16–18 ore la  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ), se utilizează o riglă sau un șubler pentru a măsura diametrul zonei clare în care creșterea bacteriană a fost inhibată, în milimetri (mm). Se măsoară de la o margine la cealaltă a zonei clare, incluzând diametrul discului.

#### Corelare cu susceptibilitatea:

Dimensiunea zonei de inhibiție reflectă eficiența antibioticului împotriva organismului testat. Zonele mai mari indică, în general, o susceptibilitate mai mare, în timp ce zonele mai mici sau absente indică rezistență.

#### Utilizarea valorilor de referință:

Diametrele zonelor măsurate trebuie comparate cu criteriile interpretative standardizate furnizate de organizații precum CLSI sau EUCAST. Aceste valori de referință sunt specifice speciilor bacteriene și antibioticelor.



Categorii:

Pe baza dimensiunii zonei, bacteriile sunt clasificate astfel:

- Sensibil (S): Patogenul este probabil inhibat de concentrațiile de antibiotic obținute prin dozele standard.
- Intermediar (I): Patogenul poate fi inhibat dacă sunt posibile doze mai mari sau o expunere crescută, sau dacă antibioticul se concentrează la locul infecției.
- Rezistent (R): Patogenul este puțin probabil să fie inhibat de antibiotic la concentrațiile obținute, și ar trebui luată în considerare o terapie alternativă.

Factori care afectează dimensiunea zonei:

Dimensiunile zonelor pot fi influențate de adâncimea agarului, densitatea inoculului, condițiile de incubare și proprietățile de difuzie ale antibioticului. Respectarea strictă a protocoalelor standardizate de testare este esențială pentru rezultate fiabile.

Exemplu:

Pentru *Escherichia coli* testată împotriva ciprofloxacinii:

- Diametru al zonei  $\geq 21$  mm = Sensibil
- Diametru al zonei 16–20 mm = Intermediar
- Diametru al zonei  $\leq 15$  mm = Rezistent

O măsurătoare a zonei de 23 mm ar clasifica izolatul ca sensibil.

Sfaturi practice pentru începători

La efectuarea testelor de susceptibilitate la antibiotice, începătorii întâlnesc adesea greșeli comune. Cunoașterea acestora poate îmbunătăți fiabilitatea și acuratețea rezultatelor:

- Contaminare: Se lucrează întotdeauna într-un mediu curat și se folosesc instrumente sterile pentru a preveni contaminarea cu microbi din mediul înconjurător. Contaminanții pot provoca creșteri neașteptate și interpretări greșite ale rezultatelor.
- Pregătirea incorectă a inoculului: Densitatea suspensiei bacteriene trebuie să corespundă cât mai exact standardului McFarland 0.5. Inoculele prea dense pot duce la reducerea falsă a zonelor de inhibiție sau la valori MIC mai mari; suspensiile prea



diluate pot da susceptibilități fals crescute. Se verifică întotdeauna turbiditatea folosind un standard McFarland sau un spectrofotometru.

- Depozitarea necorespunzătoare a discurilor: Discurile cu antibiotice trebuie depozitate conform instrucțiunilor producătorului, de obicei la frigider și protejate de umiditate și lumină. Discurile expirate sau depozitate incorect pot pierde potența, afectând rezultatele testului.
- Întinderea neuniformă a inoculului: Se asigură o distribuție uniformă a inoculului pe plăcile cu agar. Peliculele neuniforme pot produce zone de inhibiție neregulate, dificil de măsurat cu precizie.
- Condiții de incubare inconsistente: Se menține temperatura precisă (de obicei  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ) și timpul de incubare conform protocolului. Abaterile pot modifica creșterea bacteriană și activitatea antibiotică.

#### Semne ale testelor invalide

Se acordă atenție la indicatorii care sugerează că testul poate fi invalid:

- Creștere bacteriană difuză sau dispersată: În loc de un covor uniform, coloniile dispersate pot indica o pregătire defectuoasă a inoculului sau contaminare.
- Zone de inhibiție neclare sau estompate: Marginile greu de definit pot complica interpretarea. Acest lucru poate rezulta din adâncime incorectă a agarului, condiții de incubare nepotrivite sau calitate suboptimală a discurilor antibiotice.
- Schimbări neobișnuite de culoare ale agarului: Decolorarea sau culorile neașteptate ale mediului pot indica contaminare sau degradarea mediului.

#### Concentrația minimă inhibitorie MIC

Concentrația minimă inhibitorie (MIC) se referă la cea mai mică cantitate de substanță antibacteriană, măsurată în mg/L (sau  $\mu\text{g/mL}$ ), care oprește complet creșterea vizibilă a unei tulpini bacteriene în condiții de laborator (*in vitro*) riguros controlate [EUCAST, 1998].





## Metode pentru determinarea MIC

Următoarele metode sunt utilizate frecvent:

Tehnici de diluție:

- Pe medii solide cu agar
- În medii lichide de cultură
- Microdiluție (micro metodă)
- Macrodiluție (macro metodă)

Tehnici de gradient:

- Utilizarea benzilor impregnate cu un gradient cunoscut de concentrație de antibiotic

Tehnici de diluție

Conform EUCAST [2020], microdiluția în bulion este, în general, recomandată, cu excepția cazurilor de fosfomicină și mecillinam, pentru care se preferă diluția pe agar. În schimb, ghidurile americane CLSI [2018] permit utilizarea interschimbabilă a metodelor de diluție în bulion sau pe agar pentru majoritatea speciilor bacteriene și antibioticelor. Totuși, există excepții specifice: tulpinile de *Haemophilus influenzae* și antibiotice precum colistina și daptomicina necesită exclusiv diluția în bulion pentru determinarea MIC. Fosfomicina, conform ghidului EUCAST, este evaluată prin diluție pe agar. În plus, CLSI recomandă utilizarea mediului HTM pentru *H. influenzae* în locul bulionului MH–F recomandat de EUCAST.

Pentru testarea MIC, toate procedurile cantitative utilizează mediul Mueller–Hinton (MH), fie ca plăci cu agar (MHA), fie ca bulion (MHB). Uneori, mediul este suplimentat cu aditivi precum 5% sânge de cal lizat sau alte componente, în funcție de specia bacteriană sau clasa de antibiotic. Pentru bacteriile anaerobe, se folosește agar Brucella îmbogățit cu Hemină (5 µg/mL), Vitamina K (1 µg/mL) și 5% sânge de cal lizat [CLSI, 2018; Nagayama et al., 2008].

Soluțiile de lucru ale antibioticelor trebuie preparate sub formă de diluții seriate duble, cu intervalul de concentrații selectat în funcție de medicamentul specific și ținând cont



de valorile de referință MIC stabilite pentru tulpinile de referință [ISO 20776-1, 2016]. Diluțiile seriate trebuie să urmeze protocoalele prezentate în ghidurile relevante [ISO 20776-1, 2016] și cele recomandate de EUCAST [2000].

În metoda microdiluției în bulion, aceste soluții de antibiotice diluate în serie sunt distribuite în godeurile plăcilor de microtitrare. Aceste plăci pot fi utilizate imediat pentru testarea MIC sau pot fi depozitate în pungi de plastic sigilate la temperaturi de  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  sau mai scăzute, pentru o perioadă de până la trei luni [ISO 20776-1, 2016]. O excepție este tigeciclina, pentru care testarea MIC trebuie efectuată în decurs de 12 ore de la prepararea mediului Mueller-Hinton (MHB), din cauza acumulării de oxigen în timp care reduce activitatea tigeciclinei [EUCAST, 1998, 2000, 2020; Wiegand et al., 2008].

Pentru metoda diluției pe agar, 1 mL din fiecare diluție de antibiotic se adaugă la 19 mL de agar Mueller-Hinton topit (MHA) menținut la  $45\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , apoi se toarnă în cutii Petri de 9 cm [EUCAST, 2000].

#### Inoculul bacterian

Suspensia bacteriană utilizată pentru testare trebuie pregătită din colonii morfologic similare, crescute peste noapte pe un mediu neselectiv, fie solid, fie lichid. Dimensiunile țintă ale inoculului pentru fiecare metodă sunt:

- Microdiluție în bulion:  $5 \times 10^4$  UFC/mL [ISO 20776-1, 2016]
- Diluție pe agar:  $1 \times 10^4$  UFC per punct [EUCAST, 2000, Andrews, 2001]

Pentru pregătirea acestor suspensii, se prepară mai întâi o suspensie standard 0,5 McFarland.

Pentru microdiluția în bulion, suspensia 0,5 McFarland se diluează 1:100 până la aproximativ  $1 \times 10^4$  UFC/mL prin amestecarea a 9,9 mL de bulion cu 0,1 mL din suspensia 0,5 McFarland. Din aceasta, 50  $\mu\text{L}$  se adaugă în godeurile care conțin 50  $\mu\text{L}$  din soluția de antibiotic sau, alternativ, 10  $\mu\text{L}$  de inocul se adaugă la 100  $\mu\text{L}$  de antibiotic diluat. Când se utilizează plăci comerciale cu antibiotice liofilizate, 50  $\mu\text{L}$  din suspensia 0,5 McFarland se adaugă la 10 mL de bulion pentru a obține inoculul dorit. Pentru *Streptococcus pneumoniae*, 100  $\mu\text{L}$  din suspensia 0,5 McFarland se transferă în 10 mL de bulion pentru a atinge  $5 \times 10^4$  UFC/mL [EUCAST, 2003]. În metoda diluției pe agar, suspensia 0,5 McFarland se diluează 1:10 în soluție salină



sau bulion, iar 1  $\mu\text{L}$  din această diluție se aplică pe plăcile cu agar care conțin diluțiile seriate de antibiotic [EUCAST, 2000].

Inocularea trebuie să aibă loc în cel mult 30 de minute de la preparare, pentru a menține viabilitatea celulară. Plăcile și culturile în bulion sunt incubate la  $35 \pm 1$  °C timp de 18–24 de ore în condiții aerobe. O perioadă mai lungă de incubare (24 h) este recomandată pentru glicopeptide, oxacilină, tulpini de *Streptococcus spp.* și *Haemophilus spp.* [EUCAST, 2003]. Excepțiile includ *Neisseria spp.*, care necesită o atmosferă cu 5%  $\text{CO}_2$ , și bacteriile anaerobe, care necesită condiții anaerobe pentru până la 48 de ore [EUCAST, 2020].

### Controlul calității

Pregătirea corectă a inoculului afectează critic fiabilitatea testului MIC. Turbiditatea suspensiei 0,5 McFarland este verificată prin absorbție spectrofotometrică la 625 nm, care trebuie să fie între 0,08 și 0,13 [EUCAST, 2020; Wiegand et al., 2008]. În plus, densitatea inoculului din godeurile plăcii de microtitrare se verifică prin însămânțarea a 10  $\mu\text{L}$  din godeul de control al creșterii pe medii solide și incubare; creșterea a 20–80 de colonii confirmă densitatea țintă de  $5 \times 10^4$  UFC/mL [ISO 20776-1, 2016].

Măsurile de control al calității includ, de asemenea, verificarea sterilității mediului, viabilității tulpinilor și valorilor MIC pentru tulpinile de referință, conform specificațiilor ghidurilor EUCAST și CLSI [EUCAST, 2020; CLSI, 2018]. Valorile MIC pentru tulpinile de referință trebuie să se încadreze în intervalele acceptate pentru a valida rezultatele testului.

### Citirea rezultatelor

MIC este definită ca fiind cea mai mică concentrație de antibiotic care inhibă complet creșterea bacteriană vizibilă. În diluția pe agar, creșterea minimă, precum 1–2 colonii sau o încrețșoare slabă, este ignorată [Andrews, 2001; EUCAST, 2000].

În microdiluția în bulion, se aplică criterii speciale de citire pentru unele antibiotice. Pentru agenți bacteriostatici (de exemplu, cloramfenicol, tetraciclină, clindamicină) împotriva bacteriilor Gram-pozitive și pentru tigeciclină sau eravaciclină împotriva bacteriilor Gram-negative, creșterea punctuală la fundul godeurilor este ignorată.



Pentru trimetoprim-sulfametoxazol, MIC se citește la cea mai mică concentrație care inhibă  $\geq 80\%$  din creștere în comparație cu martorul [EUCAST, 2020].

Colorantul rezazurină poate fi utilizat pentru a facilita citirea; acesta își schimbă culoarea ca răspuns la activitatea metabolică bacteriană [Elshikh et al., 2016]. Testele cu modele de creștere inconsistente necesită repetare.

### Efectul Eagle

Efectul Eagle descrie o creștere paradoxală a supraviețuirii bacteriene la concentrații bactericide de antibiotic mai mari decât cele optime, raportat pentru prima dată pentru penicilină de Harry Eagle în 1948 [Jarrad et al., 2018; Prasetyoputri et al., 2019]. Acest fenomen a fost observat pentru mai multe clase de antibiotice și diverse specii bacteriene și poate duce la eșec terapeutic din cauza supradozajului. Mecanismele nu sunt complet înțelese, dar pot implica producția crescută de beta-lactamază, reducerea expresiei proteinelor de legare a penicilinei sau stres oxidativ [McKay et al., 2009].

### Metoda gradientului

Metoda gradientului utilizează benzi impregnate cu antibiotice cu gradient de concentrație predefinit (testul E) pentru a simplifica determinarea MIC. Deși rapidă și ușoară, utilizarea sa pentru testarea susceptibilității la colistină și vancomicină a scăzut din cauza rezultatelor nesigure [EUCAST, 2020; CLSI, 2018]. Valorile MIC pentru colistină sunt adesea subestimate prin testele gradient din cauza difuziei slabe și interacțiunii cu materialul benzii [Karvanen et al., 2017; Satlina, 2019]. Probleme similare există și pentru testarea MIC a fosfomicinei.

Agențiile de reglementare au restricționat metodele gradient pentru anumite antibiotice, deși cercetările continuă pentru a le îmbunătăți fiabilitatea, inclusiv prin suplimentarea mediilor cu calciu [Gwozdzinski et al., 2018; Green et al., 2020].

### Interpretarea MIC

Valorile MIC sunt comparate cu pragurile clinice stabilite de organizații precum EUCAST și CLSI pentru a clasifica tulpinile ca sensibile, intermediare sau rezistente [EUCAST, 2020; CLSI, 2018]. Aceste praguri iau în considerare date farmacologice,



microbiologice și clinice și sunt actualizate periodic [Kahlmeter et al., 2014, 2015]. Interpretarea MIC ghidează deciziile terapeutice clinice și oferă informații pentru investigarea mecanismelor de rezistență.

Spre deosebire de metodele calitative, valoarea MIC permite evaluarea gradului de susceptibilitate sau rezistență bacteriană la un antibiotic. Această informație are o importanță epidemiologică și clinică semnificativă, dar necesită interpretare atentă. Compararea directă a valorilor MIC între antibiotice diferite pentru a determina care este cel mai eficient este eronată. O astfel de practică presupune greșit că antibioticul cu cea mai mică MIC este întotdeauna cel mai eficient.

EUCAST a îmbunătățit evaluarea susceptibilității prin introducerea unor criterii noi care diferențiază două niveluri de susceptibilitate. Primul corespunde dozelor standard, iar al doilea se aplică valorilor MIC mai mari care necesită expunere crescută la antibiotic. Magnitudinea MIC influențează indicii farmacocinetici/farmacodinamici (PK/PD) esențiali pentru succesul terapiei. Este important de notat că tulpinile cu MIC apropiate de praguri, deși clasificate ca sensibile la doze standard, pot semnală eșecuri terapeutice potențiale și rezistență emergentă. De exemplu, tulpinile *Salmonella enterica* serovar Typhi cu  $\text{MIC} \leq 0,06 \text{ mg/L}$  prezintă o mutație în gena *gyrA* asociată cu dezvoltarea rezistenței la fluorochinolone [Jorgensen et al., 2015; Ezadi et al., 2019]. În mod similar, MIC-urile de 2 mg/L pentru vancomicină în infecțiile cu *S. aureus* sunt asociate cu risc crescut de eșec terapeutic, deși sunt clasificate ca sensibile [van Hal et al., 2012].

De ce este important gradul de susceptibilitate? Cu cât o tulpină este mai susceptibilă, cu atât este mai probabil ca MIC-ul ei să fie sub valoarea limită epidemiologică (ECOFF), indicând absența subpopulațiilor rezistente și reducând riscul de eșec terapeutic. O susceptibilitate ridicată îmbunătățește, de asemenea, șansele de a atinge concentrații terapeutice de antibiotic chiar și la pacienții cu parametri PK modificați. Cunoașterea gradelor de susceptibilitate în spitale sprijină gestionarea utilizării antibioticelor prin identificarea medicamentelor cu valori MIC<sub>90</sub> apropiate de praguri, ceea ce poate justifica restricționarea utilizării empirice pentru a minimiza selecția rezistenței [Doron et al., 2011; Kutı, 2016; Morency-Potvin et al., 2017; Mölsted et al., 2017].



Din păcate, multe spitale nu dispun de date cumulative privind distribuția valorilor MIC, deoarece valorile reale (nu estimările automate) sunt rar măsurate de rutină și doar pentru anumite antibiotice. Cu toate acestea, echipele de supraveghere pot colabora cu laboratoarele de microbiologie pentru a monitoriza tendințele susceptibilității, în special acolo unde apar frecvent eșecuri terapeutice în ciuda rezultatelor favorabile. Astfel de date ajută la adaptarea listelor de terapii empirice și a regimurilor de dozare. De exemplu, Kuti et al. au implementat perfuzii prelungite de meropenem și perfuzii continue de cefepim într-o secție ATI pe baza valorilor ridicate de MIC, îmbunătățind rezultatele tratamentului [Kuti, 2016]. Ei au inclus, de asemenea, linezolid pentru tulpinile MRSA cu MIC de 1,5–2 mg/L după eșecul terapiei cu vancomicină în doze mari, reducând mortalitatea și durata spitalizării [Kuti, 2016]. Transferarea acestor abordări fără context epidemiologic local nu este recomandată.

Utilizarea antibioticelor cu MIC scăzut poate îmbunătăți eficiența tratamentului; totuși, eșecul eradicării poate apărea din cauza heterorezistenței, toleranței sau persistenței — fenomene distincte de rezistența clasică. Heterorezistența implică mici subpopulații rezistente care cresc sub presiunea antibiotică, în timp ce majoritatea sunt ucise; aceste subpopulații sunt adesea nedetectabile în testele standard, dar pot apărea ca colonii în zonele de inhibiție pe testele gradient. A fost raportată la *S. aureus*, *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa* și altele, în special cu antibiotice precum colistina sau fosfomicina [Band et al., 2019; Tsuji et al., 2019]. Strategiile de dozare adecvate, inclusiv doze de încărcare și terapii combinate, sunt recomandate pentru a contracara heterorezistența.

Toleranța descrie populațiile bacteriene care supraviețuiesc la concentrații mari de antibiotice fără a se multiplica, adesea datorită mutațiilor genotipice sau stărilor fenotipice. Aceste bacterii prezintă MIC-uri neschimbate, dar o reducere a efectului bactericid (raport MBC/MIC > 32) [Band et al., 2019; Li et al., 2011]. Persistența implică o mică fracțiune de celule latente care supraviețuiesc tratamentului antibiotic, complicând eradicarea [Band et al., 2019; Li et al., 2011]. Aceste fenomene afectează terapia, în ciuda susceptibilității *in vitro* aparente.

Valorile MIC sunt cruciale pentru optimizarea terapiei antibiotice țintite atunci când sunt analizate împreună cu parametrii farmacocinetici — volumul de distribuție, timpul de





Înjumătățire, clearance-ul, concentrațiile maxime și minime și aria de sub curbă. Aceștia variază în funcție de factori individuali și în timp. În infecțiile Gram-negative rezistente, detectarea mecanismelor de rezistență (de exemplu, carbapenemaze) informează tratamentul. EUCAST și CLSI sunt de acord că prezența mecanismelor de rezistență nu exclude utilizarea carbapenemelor dacă susceptibilitatea bazată pe MIC este confirmată. Pentru *Enterobacterales* producătoare de carbapenemază, meropenemul rămâne un agent cheie în doze mari și perfuzii prelungite, adesea combinat cu alte antibiotice, în funcție de susceptibilitate și categoria MIC (S sau I). Pentru tulpinile cu MIC mai mari, se folosesc terapii combinate și agenți noi care vizează enzimele de rezistență specifice. Tulpinile panrezistente necesită regimuri multidrog, valorile MIC ghidând alegerea medicamentelor cele mai puțin rezistente [Fritzenwanker et al., 2018; Tsuji et al., 2019; Tumbarello et al., 2012].

Indicele farmacocinetic/farmacodinamic (PK/PD) corelează eficacitatea antibiotică cu MIC. În general, eficacitatea depinde de:

(1) Timpul peste MIC ( $T > MIC$ ): proporția intervalului de dozare în care nivelurile medicamentului depășesc MIC. Aproape 100%  $T > MIC$  se corelează cu tratamentul reușit, în special la pacienții imunocompromiși și în infecțiile Gram-negative. Pentru carbapeneme și bacterii Gram-pozitive, pragurile pot fi mai mici [Sinnollareddy et al., 2012; Turnidge et al., 1998]. Valorile MIC mai mici facilitează atingerea  $T > MIC$  cu doze standard; valorile mai mari pot necesita ajustări de doză sau terapii alternative. Numai concentrațiile libere (nelegate) contribuie la eficacitate. Creșterea nivelurilor medicamentului mult peste MIC nu oferă beneficii suplimentare pentru antibioticele dependente de timp [Muller et al., 2018; Tam et al., 2020].

Devine mai ușor de înțeles relația dintre MIC și atingerea indicelui PK/PD atunci când interacțiunea este prezentată grafic și cu formula matematică propusă de Turnidge în 1998 pentru calculul  $T > MIC$  [Masich et al., 2018]:

$$\%T_{C>MIC} = \ln \left[ \frac{\text{Dose}}{V_d \times MIC} \right] \times \left[ \frac{t_{1/2}}{0.693} \right] \times \left[ \frac{100}{DI} \right]$$

unde:  $\ln$  — logaritm natural,  $V_d$  — volum de distribuție (L/kg),  $t_{1/2}$  — timp de înjumătățire serică (ore),  $DI$  — interval de dozare (ore).



(2)  $C_{max}/MIC$  este un parametru caracteristic antibioticelor a căror eficacitate depinde de concentrația maximă, care este de multe ori mai mare decât MIC (minim 8–10×) și nu de durata menținerii peste MIC [Heffernan et al., 2018]. Totuși, ca și în cazul parametrului anterior, valorile mai mici ale MIC sunt mai susceptibile să îndeplinească condițiile de eficacitate pentru aceste antibiotice, reducând riscul de toxicitate.

(3)  $AUC/MIC$  caracterizează antibioticele dependente de timp și de concentrație [Abdul-Aziz și Roberts, 2020; Pea et al., 2005; Salem et al., 2014; Tam et al., 2018; Tsala et al., 2018; Xie et al., 2017]. Ca și în cazurile anterioare, valoarea MIC influențează efectul medicamentului.

Formula pentru calcularea raportului  $AUC/MIC$ , ținând cont de valoarea MIC [Mohr et al., 2004], este:

$$\frac{AUC}{MIC} = \ln \left[ \frac{Dose}{V_d \times MIC} \right] \times \left[ \frac{t_{1/2}}{0.693} \right] \times \left[ \frac{24}{DI} \right]$$

unde:  $\ln$  — logaritm natural,  $V_d$  — volum de distribuție (L/kg),  $t_{1/2}$  — timp de înjumătățire serică (ore),  $DI$  — interval de dozare (ore).

Utilizarea parametrilor PK în predicția eficacității clinice

Când se aplică parametrii farmacocinetici pentru a prezice eficacitatea antibiotică, este important să se selecteze valori specifice grupurilor de pacienți (de exemplu, pacienți ATI, cu pneumonie nosocomială, copii, femei gravide) sau, ideal, date PK individuale. Totuși, măsurarea individuală PK este dificilă [Parthasarathy et al., 2018]. Analizările automate pentru concentrațiile serice ale antibioticelor sunt disponibile în principal pentru vancomicină și aminoglicozide [Parthasarathy et al., 2018], astfel încât se folosesc frecvent parametrii PK populaționali. Din păcate, majoritatea datelor disponibile provin de la voluntari sănătoși, în timp ce pacienții bolnavi prezintă PK modificate, influențând rezultatele tratamentului.

Provocări în combinarea datelor MIC și PK

Pentru a determina cu acuratețe indicii PK/PD, măsurătorile MIC ar trebui să coincidă cu concentrațiile serice ale antibioticelor după administrare, ceea ce este practic dificil



din cauza modificărilor rapide ale concentrațiilor de medicament, în timp ce MIC este o măsurătoare statică. Determinarea accelerată a MIC ar îmbunătăți optimizarea terapiei, similar testării rapide a susceptibilității direct din hemoculturi pozitive folosind difuzia pe disc [EUCAST, 2020]. Deși au fost explorate metode directe de MIC folosind benzi cu gradient [Bianco et al., 2019; Hong et al., 1996; Kontopidou et al., 2011], acestea nu au primit aprobare EUCAST sau CLSI.

În prezent, valorile MIC<sub>90</sub> derivate din date epidemiologice cumulative pot fi utilizate în timp ce se așteaptă rezultatele MIC individuale. Metode statistice precum simulările Monte Carlo estimează probabilitatea de atingere a indicilor PK/PD optimi pe baza datelor PK populaționale și a valorilor MIC. Aceste simulări ajută la evaluarea ajustărilor de dozaj pentru o terapie eficientă [EUCAST, 2020]. Actualizări continue ale acestor modele sunt necesare pentru a reflecta condițiile clinice în evoluție și regimurile de dozare.

#### Limitările testării MIC

Testele de susceptibilitate antimicrobiană, inclusiv determinările MIC, evaluează interacțiunile directe agent patogen–medicament *in vitro* și nu țin cont de factorii gazdei precum distribuția medicamentului, legarea de proteine, funcția organelor, răspunsul imun, nutriția sau tratamentele concomitente, toate influențând rezultatele clinice [Doern și Brecher, 2011; Falagas et al., 2012; Mouton et al., 2018; Puttaswamy et al., 2018]. Astfel, susceptibilitatea de una singură nu garantează succesul terapeutic.

MIC-uri mai mari se corelează cu un risc crescut de eșec terapeutic, chiar și atunci când tulpinile sunt încadrate ca sensibile. De exemplu, eficacitatea vancomicinei împotriva *Staphylococcus aureus* scade semnificativ la MIC  $\geq 1$  mg/L [Kullar et al., 2011; Maclayton et al., 2006; Moise-Broder et al., 2004; Sakoulas et al., 2004]. Interpretarea clinică a MIC necesită integrarea cu parametrii PK, solicitând colaborare multidisciplinară între microbiologi, farmacologi și clinicieni.

Determinările MIC se confruntă cu variabilitate; măsurătorile repetate pot diferi până la dublu, afectând clasificarea susceptibilității și deciziile de dozare [Doern și Brecher, 2011]. În plus, rezultatele MIC reprezintă inoculi standardizați, fără a ține cont de variabilitatea încărcăturii bacteriene la locurile infecției, care poate influența rezistența



*in vivo* și rezultatele tratamentului [Mouton et al., 2018; Puttaswamy et al., 2018]. Virulența tulpinii, ne reflectată de MIC, influențează de asemenea eficacitatea terapiei [Doern și Brecher, 2011].

#### Momentul obținerii și utilizarea practică a datelor MIC

Rezultatele MIC necesită de obicei 3–5 zile, creând un decalaj între solicitarea testului și disponibilitate. Între timp, caracteristicile și susceptibilitățile agentului patogen pot evolua, complicând deciziile terapeutice [Doern și Brecher, 2011]. Cu toate acestea, datele cumulative MIC rămân valoroase pentru ghidarea terapiei empirice și pentru programele de utilizare judicioasă a antibioticelor, cu condiția să fie derivate din izolate infecțioase, nu din colonizare sau contaminare, pentru a evita concluziile înșelătoare.

MIC este în prezent cel mai bun parametru disponibil care reflectă eficacitatea antibiotică împotriva tulpinilor bacteriene. În pofida standardizării metodelor, valorile MIC pot varia cu  $\pm$  o diluție, de obicei fără impact clinic; totuși, valorile apropiate de praguri necesită o interpretare atentă pentru clasificarea rezistenței și selecția terapiei optime. Integrarea MIC cu parametri PK individualizați poate îmbunătăți semnificativ rezultatele tratamentului. Deși măsurarea directă a parametrilor PK/PD este complexă și adesea inaccesibilă, simulările Monte Carlo oferă estimări utile care leagă MIC de strategiile de dozare. Introducerea de către EUCAST a două categorii de susceptibilitate facilitează dozarea adaptată pe baza MIC.

Determinarea în laborator a MIC rămâne dificilă și consumatoare de timp. Chiar și valorile MIC precise nu pot prezice întotdeauna succesul clinic din cauza mecanismelor nedetectabile precum heterorezistența, toleranța sau persistența, care contribuie la eșecuri terapeutice în ciuda alegerii optime a antibioticului.

Valorile MIC sunt cruciale pentru optimizarea terapiei antibiotice ținute atunci când sunt analizate împreună cu parametrii farmacocinetici și farmacodinamici. Farmacocinetica (PK) se referă la modul în care organismul absoarbe, distribuie, metabolizează și elimină antibioticul, ceea ce influențează concentrațiile medicamentului la locul infecției. Parametrii PK importanți includ volumul de distribuție ( $V_d$ ), timpul de înjumătățire serică ( $t_{1/2}$ ), clearance-ul, concentrațiile maxime și minime și aria de sub



curba concentrație–timp (AUC). Acești parametri variază între pacienți în funcție de factori precum vârsta, greutatea, funcția organelor și starea de boală.

Farmacodinamica (PD), pe de altă parte, studiază modul în care antibioticul afectează bacteriile — mecanismul său de acțiune și relația dintre concentrația medicamentului și uciderea bacteriană sau inhibarea creșterii. Combinarea PK și PD (denumită PK/PD) ajută la determinarea regimului optim de dozare pentru a maximiza eficacitatea antibiotică, minimizând în același timp toxicitatea și dezvoltarea rezistenței.

Prin integrarea valorilor MIC cu parametrii PK și PD individuali, clinicienii pot adapta mai bine terapia antibiotică pentru a obține cea mai eficientă eradicare bacteriană.

#### Comparație între metodele Kirby-Bauer și MIC (Opțional)

Atât metoda de difuzie pe disc Kirby-Bauer, cât și metoda concentrației minime inhibitoare (MIC) sunt instrumente esențiale în testarea susceptibilității antimicrobiene, fiecare cu avantaje și limitări.

#### Avantaje ale Kirby-Bauer:

- Simplă, rentabilă și larg accesibilă.
- Necesită echipamente specializate și expertiză tehnică minime.
- Potrivită pentru screening rapid al susceptibilității bacteriene în laboratoarele clinice de rutină

#### Dezavantaje ale Kirby-Bauer:

- Oferă doar rezultate calitative (Sensibil, Intermediar, Rezistent).
- Mai puțin precisă pentru antibiotice cu ferestre terapeutice înguste sau unde optimizarea dozei este critică.
- Rezultatele pot fi influențate de variații ale adâncimii agarului, dimensiunii inoculului și condițiilor de incubare.

#### Avantaje ale MIC:

- Oferă măsurare cantitativă a activității antibiotice, indicând cea mai mică concentrație care inhibă creșterea bacteriană.



- Permite ajustări precise ale dozelor, mai ales în infecții complicate sau rezistente.
- Sprijină integrarea cu date PK/PD pentru terapie optimizată

#### Dezavantaje ale MIC:

- Mai laborioasă și consumatoare de timp.
- Necesită echipamente specializate și personal instruit.
- Cost în general mai mare comparativ cu difuzia pe disc.

#### Când se folosește fiecare metodă:

Kirby-Bauer este preferată pentru screening de rutină, la scară largă, al susceptibilității, datorită simplității și costului redus. Testarea MIC este recomandată atunci când sunt necesare date cantitative precise pentru decizii clinice, cum ar fi în infecții severe, eșecuri terapeutice sau infecții cauzate de organisme multirezistente.

#### Discuție / Exemple practice

Interpretarea testelor de susceptibilitate antimicrobiană trebuie să ia în considerare atât metodologia de laborator, cât și contextul clinic. Câteva considerații practice includ:

- Un izolat bacterian poate fi încadrat ca sensibil prin Kirby-Bauer, dar să aibă o MIC aproape de pragul de rezistență, necesitând o interpretare clinică atentă.
- Variabilitatea densității inoculului, a compoziției agarului sau a timpului de incubare poate produce rezultate neregulate în difuzia pe disc. Respectarea strictă a protocoalelor standardizate este esențială.
- Mecanisme de rezistență precum heterorezistența sau persistența bacteriană pot duce la eșec terapeutic în ciuda susceptibilității in vitro.
- Erori precum contaminarea discurilor, depozitarea improprie sau pregătirea incorectă a inoculului pot invalida rezultatele testului.

Exemplele din practică arată că, corelarea datelor de laborator cu rezultatele clinice îmbunătățește succesul terapiei și sprijină programele de utilizare judicioasă a antibioticelor.





## Concluzie

Testarea precisă a susceptibilității antimicrobiene este o piatră de temelie a managementului eficient al infecțiilor și a utilizării responsabile a antibioticelor. Înțelegerea punctelor forte și a limitărilor metodelor Kirby-Bauer și MIC asigură selectarea adecvată a testelor și interpretarea rezultatelor. Controlul continuu al calității, standardizarea metodelor și colaborarea interdisciplinară sunt vitale pentru optimizarea utilizării antibioticelor și combaterea rezistenței.

## 2.3 Bibliografie

Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48 Suppl 1:5–16.

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45(4):493–6.

Bauer AW, Perry DM, Kirby WM. Single-disc antibiotic-sensitivity testing of staphylococci; an analysis of technique and results. *AMA Arch Intern Med.* 1959;104(2):208–16.

Cantón R, Morosini MI. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35(5):977–91.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* CLSI document M100. 26th ed. Wayne (PA): CLSI; 2016.

CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.* CLSI document M07. 11th ed. Wayne (PA): CLSI; 2018.

DIFCO Laboratories. *Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures.* 10th ed. Detroit (MI): Difco Laboratories; 1984.

Doern GV, Brecher SM. The clinical predictive value (or lack thereof) of the results of in vitro antimicrobial susceptibility tests. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9 Suppl):S11–4.

Doron S, Davidson LE. Antimicrobial stewardship. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(11):1113–23.



Elshikh M, Ahmed S, Funston S, Dunlop P, McGaw M, Marchant R, Banat IM. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett*. 2016;38(6):1015–9.

EUCAST. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. Version 12.0. Växjö (Sweden): EUCAST; 2022.

EUCAST. *Guidance documents for antimicrobial susceptibility testing*. Växjö (Sweden): EUCAST; 2020. Available from: <https://www.eucast.org>

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution*. Clin Microbiol Infect. 2000;6(9):509–15.

Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Adjustment of dosing of antimicrobial agents for bodyweight in adults. *Lancet*. 2012;379(9815):248–56.

Fritzenwanker M, Imirzalioglu C, Herold S, Wagenlehner FM, Zimmer KP, Chakraborty T. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antibiotics (Basel)*. 2018;7(3):88.

Green DA, Chen J, Fulmer Y, Chou S. Antibiotic resistance in non-fermenting Gram-negative bacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(8):602.

Gwozdzinski K, Maczynska B, Kepa M, Lechowicz L, Stefaniuk E, Hryniewicz W, et al. Differences in susceptibility testing methods for antibiotics: disk diffusion vs. automated systems. *Pol J Microbiol*. 2018;67(4):475–82.

Heffernan AJ, Sime FB, Lipman J, Roberts JA. Individualizing therapy to minimize bacterial multidrug resistance. *Drugs*. 2018;78(7):693–707.

Hong MC, Hsueh PR, Hsu K. Clinical significance of bacteriuria in catheterized patients. *J Formos Med Assoc*. 1996;95(8):589–94.

ISO 20776-1:2019. *Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases*. Geneva: International Organization for Standardization; 2019.

Jarrad AM, Karoli T, Blaskovich MAT, Cooper MA. Optimization of antibiotic compounds using structure–activity relationships. *Future Med Chem*. 2018;10(9):901–21.



Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington (DC): ASM Press; 2007. p. 1152–72.

Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility testing methods and interpretive criteria. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington (DC): ASM Press; 2015. p. 1253–73.

Kahlmeter G. The 2014 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guideline. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(3):255–9.

Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, Friberg LE, Cars O. Integration of PK/PD and susceptibility testing in antimicrobial resistance studies. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23(5):306–11.

Kontopidou F, Plachouras D, Papadomichelakis E, Poulakou G, Skoutelis A, Armaganidis A, Giamarellou H. Colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC carbapenemase in intensive care unit patients in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(11):1792–7.

Kullar R, Goff DA. Transformation of antimicrobial stewardship programs through technology and informatics. *Infect Dis Clin North Am*. 2014;28(2):291–300.

Kuti JL, Nightingale CH, Nicolau DP. Optimizing pharmacodynamic target attainment using Monte Carlo simulation. *Pharmacotherapy*. 2006;26(9):1320–32.

Li B, Webster TJ. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *J Orthop Res*. 2018;36(1):22–32.

MacLayton DO, Suda KJ, Hamilton LA, McDuffie RD. Infectious disease pharmacotherapy and therapeutic drug monitoring. *Clin Pharmacokinet*. 2006;45(5):391–411.

Masich AM, Martirosov DM, Lodise TP. Current approach to antimicrobial pharmacodynamics in clinical practice. *Infect Dis Clin North Am*. 2018;32(2):319–35.

McKay GA, Beaulieu S, Arhin FF, Belley A, Moeck G, Pelletier J, Parr TR Jr. Time-kill kinetic studies of novel anti-MRSA agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(2):737–40.

Mohr JF, Murray BE. Point-counterpoint: implications of vancomycin MIC “creep”. *Clin Infect Dis*. 2007;45(4):439–40.



Moise-Broder PA, Forrest A, Birmingham MC, Schentag JJ. Pharmacodynamics of vancomycin and other glycopeptides in patients with *Staphylococcus aureus* lower respiratory tract infections. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(13):925–42.

Mölstad S, Löfmark S, Carlin K, Erntell M, Aspevall O, Blad L, et al. Lessons learned from 20 years of the Swedish strategic programme against antibiotic resistance. *Bull World Health Organ*. 2017;95(11):764–73.

Morency-Potvin P, Schwartz DN, Weinstein RA. Antimicrobial stewardship: how the microbiology laboratory can right the ship. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(1):381–407.

Mouton JW, Brown DF, Apfalter P, Cantón R, Giske CG, Ivanova M, et al. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(9):806–12.

Muller AE, Theuretzbacher U, Mouton JW. Use of old antibiotics now and in the future from a pharmacokinetic/pharmacodynamic perspective. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(9):803–5.

Nagayama A, Nagata M, Oka T. Comparative study of MIC determination methods for macrolides. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(2):341–5.

Parthasarathy R, Martinez M, Gupta A, Ng J. Analytical approaches for therapeutic drug monitoring of antibiotics: current practice and future directions. *Clin Biochem*. 2018;60:18–28.

Pea F, Viale P, Cojutti P, Del Favero A, Furlanut M. Therapeutic drug monitoring of antibacterials in critically ill patients: a tool for improving therapy. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(9):925–45.

Prasetyoputri A, Fuhler GM, Wijmenga C, Netea MG, Pandey R, de Jong DJ. Pathogen persistence and antibiotic tolerance mechanisms. *Front Immunol*. 2019;10:2728.

Puttaswamy SK, Kandasamy K, Pokhrel M, Mohan R. Newer methods for antibiotic susceptibility testing. *J Clin Diagn Res*. 2018;12(6):DC17–21.

Sakoulas G, Moellering RC Jr. Increasing antibiotic resistance among MRSA: current trends and future options. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14 Suppl 3:16–23.

Salem AHA, Houshmand G, Alnahhas F, Alsalem A. Combination therapy for multidrug-resistant Gram-negative infections. *Infect Drug Resist*. 2014;7:337–42.

Satlina T, Roberts JA, Udy AA. Strategies to optimize antimicrobial therapy in critically ill patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2019;32(6):587–93.



Sinnollareddy MG, Roberts MS, Lipman J, Roberts JA. Pharmacokinetic–pharmacodynamic considerations for antibiotic therapy in critically ill patients. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2012;5(6):731–48.

Tam VH, Ledesma KR, Chang KT, Weston JS, Caeiro JP, Garey KW. Determining pharmacodynamic targets of glycopeptides and lipopeptides against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(3):e01686-17.

Tam VH, Louie A, Deziel MR, Liu W, Drusano GL. The relationship between quinolone exposures and resistance amplification is characterized by an inverted U: a new paradigm for optimizing pharmacodynamics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(2):744–7.

Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, Paul M, Daikos GL, Forrest A, et al. International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins. *Pharmacotherapy*. 2019;39(1):10–39.

Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase–producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):943–50.

Turnidge J, Paterson DL. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):391–408.

van Hal SJ, Fowler VG Jr. Is it time to replace vancomycin in the treatment of MRSA infections? *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(4):355–61.

Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc*. 2008;3(2):163–75.

Winn W Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Xie J, He Z, Lv S, Wang S. Comparative evaluation of methods for detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Front Microbiol*. 2017;8:914.



## **CAPITOLUL 3. EFECTELE TOXICE ALE CONTAMINANȚILOR ASUPRA ORGANISMULUI UMAN ȘI METODELE VERZI INOVATOARE PENTRU REDUCEREA ACESTORA**

### **3.1 Introducere**

Producția sustenabilă de produse naturale, prin selecția atentă a resurselor vegetale și păstrarea principiilor lor active, oferă căi promițătoare de a atenua efectele toxice ale contaminanților de mediu asupra organismului uman, constituind o piatră de temelie a strategiilor verzi inovatoare pentru reducerea poluării.

La nivel global, toxicanții de mediu și contaminanții chimici au apărut ca o provocare serioasă și în expansiune pentru sănătatea publică. Ei provin dintr-o gamă largă de activități umane — inclusiv producție industrială, agricultură intensivă, arderea combustibililor fosili și gestionarea deficitară a deșeurilor — și sunt acum prezenți în aer, sol, apă și chiar în lanțul alimentar. Organizația Mondială a Sănătății (OMS 2023) a raportat că, în 2016, aproape un sfert din toate decesele și povara bolilor la nivel mondial au fost legate de factori de mediu care ar putea fi preveniți, precum poluarea chimică și deșeurile periculoase.

Consecințele acestor poluanți pentru sănătatea umană variază de la efecte pe termen scurt, precum detresă respiratorie și iritații ale pielii, până la afecțiuni cronice și care pun viața în pericol. Se crede că numai poluarea aerului face peste cinci milioane de victime anual (Augusta University, 2023). Anumite substanțe chimice pot acționa ca agenți cancerigeni, teratogeni sau mutageni, provocând leziuni biologice permanente. Expunerea are loc prin multiple căi — respirarea aerului contaminat, consumul de alimente și apă poluate sau contactul cu pielea (Sokan-Adeaga et al., 2023). Odată absorbite, aceste substanțe pot afecta organe vitale precum plămânii, inima, ficatul, rinichii, creierul și organele de reproducere, copiii, vârstnicii și femeile însărcinate fiind cei mai vulnerabili (Balbus et al., 2013).

Problema nu este doar medicală, ci și economică. Intoxicația cu plumb, singură, este estimată să coste economia globală aproximativ 6 trilioane USD anual — aproximativ 6,9% din PIB-ul mondial (OMS 2023). În 2019, se estimează că, copiii sub cinci ani au





pierdut colectiv 765 de milioane de puncte IQ din cauza expunerii la plumb (Banca Mondială, 2023), cu consecințe durabile pentru dezvoltarea umană și productivitate. Se așteaptă ca schimbările climatice să agraveze situația, modificând tiparele de eliberare, distribuție și vulnerabilitate umană la poluanți (Balbus et al., 2013). Aceste schimbări ar putea modifica profilele de risc, făcând esențială reevaluarea strategiilor actuale de evaluare și gestionare a pericolelor pentru sănătatea mediului.

Acest capitol examinează modul în care contaminanții de mediu afectează organismul uman și prezintă abordări verzi inovatoare menite să reducă impactul lor, sprijinind viziunea globală de a avansa către un viitor fără poluare (UNEP, 2023).

### **3.2 Efecte toxice asupra corpului uman**

#### **Poluarea chimică**

Utilizarea substanțelor chimice a crescut dramatic în unele sectoare, în special în industrie, agricultură și transporturi. Din 1950, au fost sintetizate peste 140.000 de substanțe chimice și pesticide; peste 3.000 dintre acestea sunt utilizate în cantități foarte mari (peste 300.000 kg pe an), se scurg în mediu, iar toate ființele vii sunt expuse la ele. Expunerea umană are loc prin aerul pe care îl respirăm, apa pe care o bem sau cu care ne spălăm, hrana pe care o mâncăm, solul pe care îl atingem, ustensilele pe care le folosim, detergenți, cosmetice etc.

Suntem expuși practic peste tot: acasă, la școală, la locul de muncă, în parcuri, la țară, la mare și la munte și în timpul călătoriilor. Mai puțin de 45% dintre aceste substanțe au fost studiate pentru toxicitatea de bază și mai puțin de 10% pentru efectele asupra copiilor.

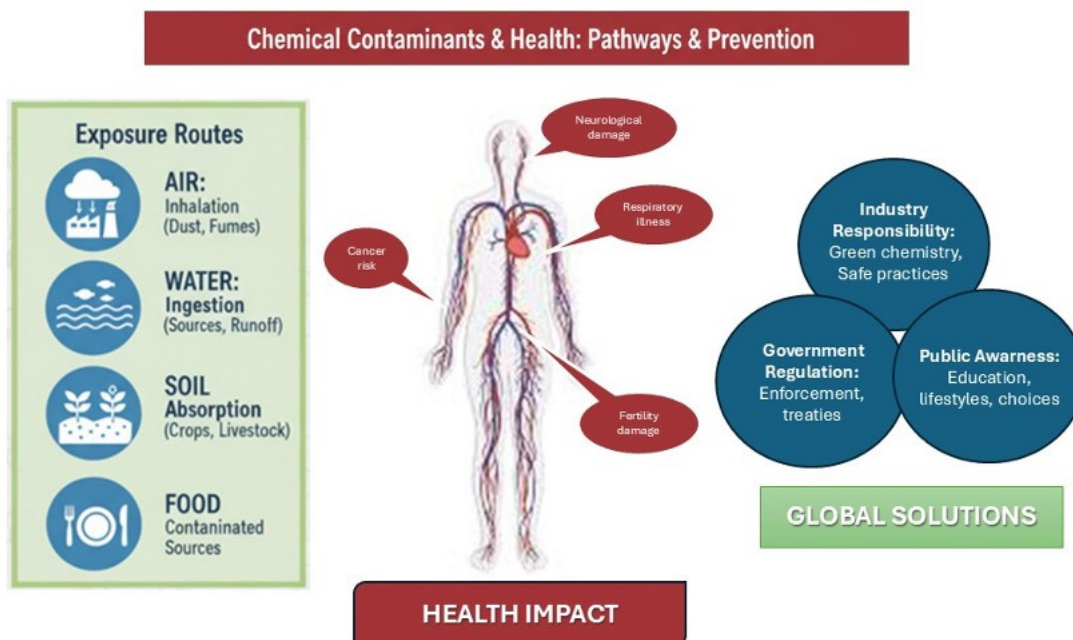


Figura 3.1 Poluanți chimici și sănătate: căi de expunere și strategii de prevenire la nivel global

Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății, cele 10 cele mai mari pericole chimice pentru sănătatea publică sunt: plumbul, azbestul, mercurul, arsenul, benzenul, dioxinele, pesticidele extrem de toxice, cadmiul, fluorura și substanțele fixate în materialul particulat în general. Substanțele chimice pot provoca efecte adverse asupra sănătății, adesea din cauza expunerii pe termen lung.

Dioxinele și substanțele similare dioxinelor, inclusiv bifenilii policlorurați (PCB), sunt considerate poluanți organici persistenți (POP), ceea ce înseamnă că persistă în mediu, se acumulează în organismele vii și pot fi dăunătoare sănătății. Ele sunt adesea găsite în regiuni îndepărtate ale lumii deoarece sunt transportate de apă, aer și alte mijloace pe distanțe mari față de sursa lor. Substanțele chimice care acționează ca perturbatori endocrini sunt deosebit de periculoase pentru sănătate.

### Poluarea cu medicamente

Medicamentele, deși foarte utile și uneori esențiale pentru supraviețuire, au devenit un motiv de îngrijorare la nivel mondial ca „contaminanți” de mediu emergenți (contaminanți care până acum nu au generat îngrijorare, adică s-ar putea vorbi de o



„îngrijorare emergentă”). Acest lucru se datorează faptului că utilizarea lor din ce în ce mai răspândită a dus la dispersia lor în mediu, deoarece reziduurile se pot răspândi în timpul producției, utilizării (eliminate în urină, fecale, transpirație) și eliminării.

Reziduuri ale diverselor tipuri de medicamente (hormoni, medicamente anticancer, antidepresive, antibiotice etc.) au fost găsite în apa de suprafață, apa subterană, apa potabilă, sol, aer și în fauna sălbatică la nivel mondial. Cantitățile fiecărui medicament sunt minime, dar moleculele (adică principiile active conținute în diversele medicamente) prezente sunt numeroase, distribuția lor în mediu este globală, iar animalele și oamenii sunt expuși multor amestecuri ale acestor substanțe pentru perioade îndelungate.

Toate acestea ridică îngrijorări că, chiar și la concentrații minime — niveluri de nanograme (o miliardime de gram) sau micrograme (o milionime de gram) pe litru — medicamentele și reziduurile lor ar putea reprezenta un risc pentru sănătatea umană, mai ales deoarece sunt deja cunoscute efecte adverse semnificative asupra animalelor. Nu este ușor de identificat sursa principală a poluării.

Majoritatea medicamentelor pe care le consumăm sunt eliminate prin urină, fecale sau transpirație și, astfel, ajung în apele uzate (apele reziduale). Multe medicamente sunt aplicate sub formă de creme, loțiuni și plasturi medicamentoși, iar partea care nu este absorbită de piele este eliminată în timpul dușurilor sau băilor, ajungând din nou în apele uzate. O parte dintre medicamentele neutilizate și expirate care umplu dulăpiorul tipic de medicamente din fiecare casă italiană nu sunt eliminate corespunzător. Spitalele și căminele private de îngrijire pot fi, de asemenea, o sursă de poluare; de fapt, sunt unități în care sunt folosite multe medicamente, iar sistemele de epurare a apelor uzate sunt adesea inadecvate pentru a filtra aceste substanțe. Companiile farmaceutice sunt o sursă semnificativă de poluare, deși nu toate în aceeași măsură.

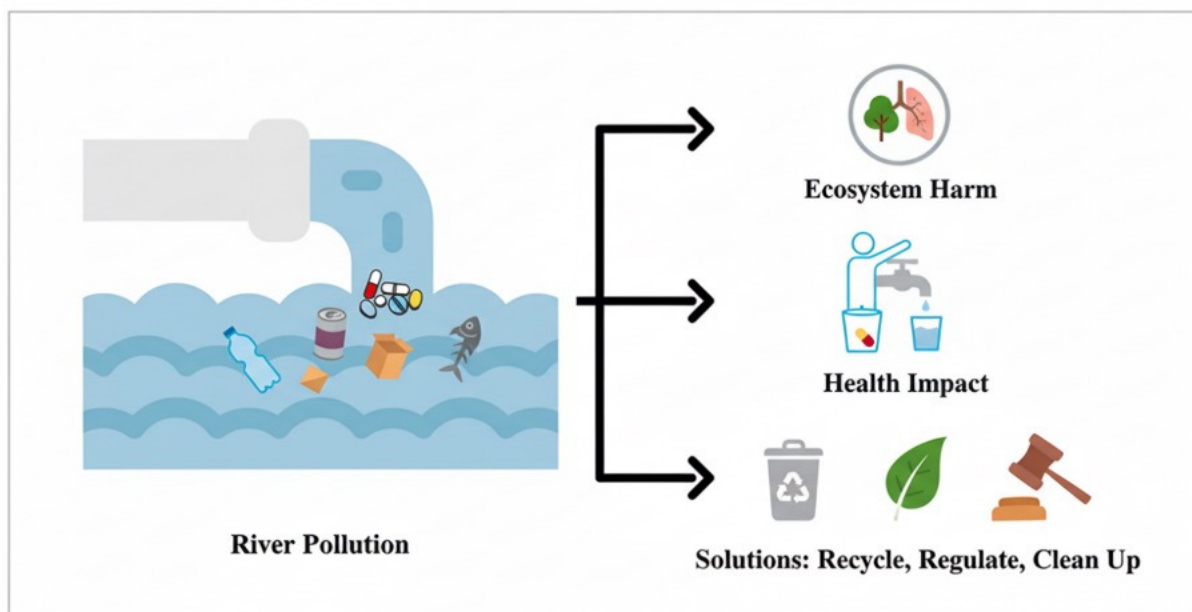


Figura 3.2. Poluarea farmaceutică și obiectivele de dezvoltare durabilă

Medicamentele sunt concepute să fie biologic active (adică să afecteze celulele organismului) chiar la concentrații mici, să dureze mult timp și sunt adesea non-biodegradabile (adică nu se degradează rapid în mediu). Prin urmare, tind să persiste în mediu și să se acumuleze (bioacumuleze) în biotă, adică în diversele organisme animale sau vegetale care trăiesc într-un ecosistem. Cercetări recente au arătat că medicamentele se acumulează în nevertebratele acvatice, care sunt apoi ingerate de pești, care la rândul lor pot fi consumați de oameni.

Acest fenomen, cunoscut sub denumirea de „biomagnificare”, contaminează lanțul alimentar. Nu este ușor de studiat efectele unor cantități minime de medicamente asupra organismului uman. Efectele cronice (din cauza expunerii pe termen lung) ar putea fi datorate unor modificări minore care nu sunt ușor de identificat la timp. Când, după mulți ani, deteriorarea devine evidentă, nu este întotdeauna posibil să se determine dacă există o corelație între expunerea la medicament și tulburarea de care suferă o persoană. Efectul cumulativ al unor cantități chiar minime de produse farmaceutice în apa potabilă este îngrijorător, în special în rândul grupurilor populaționale cele mai vulnerabile (copii, femei însărcinate, persoane cu dizabilități etc.).



Cel mai temut aspect, ale cărui efecte sunt deja evidente, este expunerea indirectă din mediu la antibiotice, care poate crea bacterii rezistente la antibiotice și astfel expune oamenii la riscul de infecții cauzate de bacterii netratabile. În ciuda incertitudinii privind efectele asupra sănătății umane, există dovezi considerabile că produsele farmaceutice din apă afectează viața acvatică și nu numai! Multe studii raportează efecte clare și semnificative din cauza contaminării cu medicamente a apei și a mediului, cum ar fi feminizarea peștilor și sterilitatea broaștelor cauzate de reziduurile din pilula contraceptivă. Studiile asupra peștilor din amonte și aval de stațiile de epurare a apelor uzate au constatat mai mulți pești femele și intersex în aval. În Pakistan, diclofenacul (un antiinflamator puternic) a provocat moartea a multe mii de vulturi care se hrănesc cu carcase contaminate cu medicamentul. Diclofenacul, la concentrațiile găsite în apele dulci, provoacă, de asemenea, leziuni la rinichii și branhiile păstrăvului. Sulfadiazina, un antimicrobian utilizat în creșterea porcilor, determină rezistență la antibiotice în bacteriile din sol.

### **Poluarea cu plastic**

Eliberarea în mediu a particulelor derivate din plastic — microplastice (0,1 până la 5.000 micrometri ( $\mu\text{m}$ )) și nanoplastice (0,001 până la 0,1  $\mu\text{m}$ , adică 1 până la 100 nanometri) — reprezintă o problemă globală.

Microplasticele și nanoplasticele sunt răspândite în toate ecosistemele marine și terestre.

Expunerea umană poate apărea prin ingestia de pește, fructe de mare, stridii, midii, apă contaminată, sare sau chiar prin inhalarea aerului contaminat. Îngrijorătoare sunt concentrațiile ridicate de substanțe periculoase și perturbatoare endocrine care pot fi ingerate prin microplastice, cum ar fi bisfenolul A (din ambalaje), bifenilii policlorurați (PCB) și hidrocarburile aromatice policiclice (PAH)

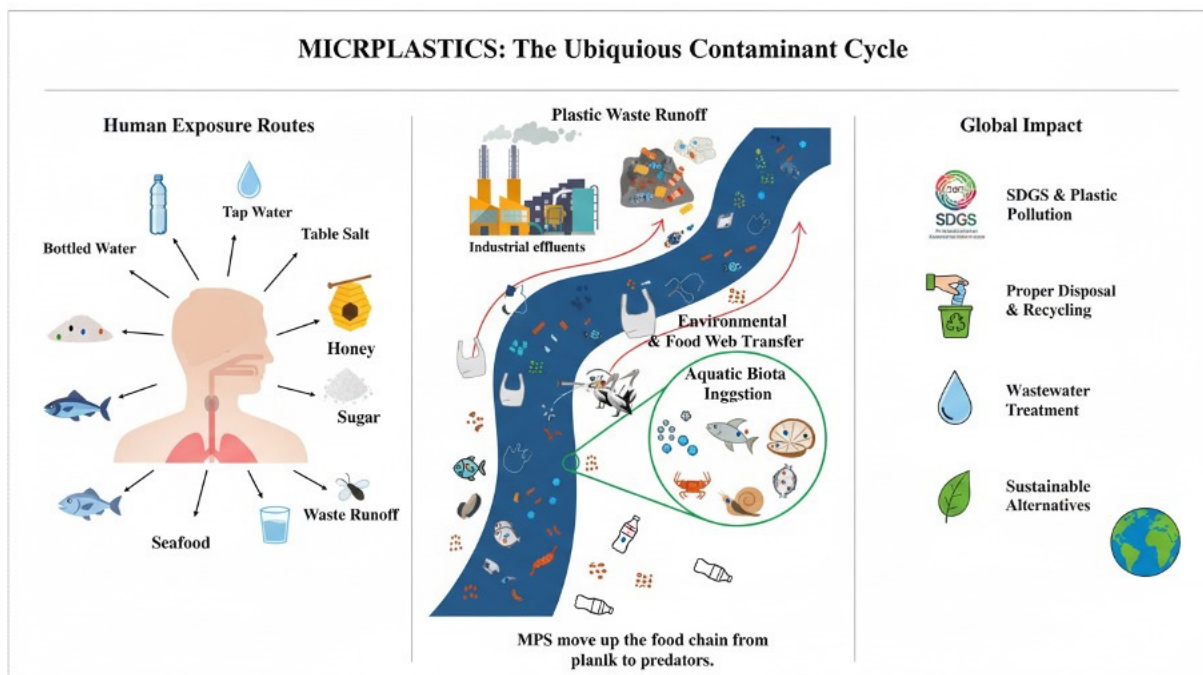


Figura 3.3 Poluarea cu micro(nano)plastice și sănătatea umană

## Altele

Influența poluanților de mediu asupra sănătății umane este largă și complexă, constituind focusul central al toxicologiei mediului — o disciplină dedicată înțelegerii modului în care substanțele chimice, fie acționând singure, fie în combinație, pot dăuna organismelor vii în timp (Shetty, 2023). Chiar la concentrații mici, multe substanțe pot interacționa în moduri care le amplifică potențialul toxic, făcând expunerea pe termen lung deosebit de periculoasă.

### Impacturi toxicologice generale

Poluanții au fost asociați cu un spectru larg de boli, inclusiv cancer, boală cardiacă ischemică, boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC), accident vascular cerebral, tulburări neurologice și psihice și diabet (Shetty, 2023). Unele contaminante se acumulează selectiv în anumite organe, atingând concentrații interne care depășesc pe cele din mediul înconjurător. Acest proces de bioacumulare poate, de-a lungul anilor, să provoace leziuni semnificative și uneori ireversibile ale organelor (Alharbi, 2018).





Exemple notabile de substanțe nocive includ:

- DDT – un pesticid utilizat istoric împotriva dăunătorilor agricoli și încă aplicat în unele regiuni din Africa, Asia și America Latină.
- Furani – compuși care apar din gătirea la temperaturi înalte, anumite procese chimice și unele produse de consum precum materialele de ambalare.
- Dioxine – subproduse toxice ale proceselor industriale sau ale evenimentelor naturale precum incendiile de pădure și erupțiile vulcanice.
- Compuși organici volatili (COV) – substanțe chimice care se evaporă ușor, găsite în vopsele, solvenți, carburanți, materiale de construcție și agenți de curățare.
- Aldehyde – de exemplu, formaldehida, utilizată în produse din lemn presat, textile și cosmetice.
- Metale grele volatile – precum vaporii de mercur proveniți din activități industriale, arderea cărbunelui sau descompunerea deșeurilor.
- Hidrocarburi clorurate – prezente în unii solvenți și produse de curățare.
- Medicamente.

În anumite cazuri, substanțele sunt inofensive în forma lor inițială, dar devin toxice după conversia metabolică în interiorul organismului. Metaboliții rezultați pot fi chiar mai dăunători, având uneori proprietăți carcinogene.

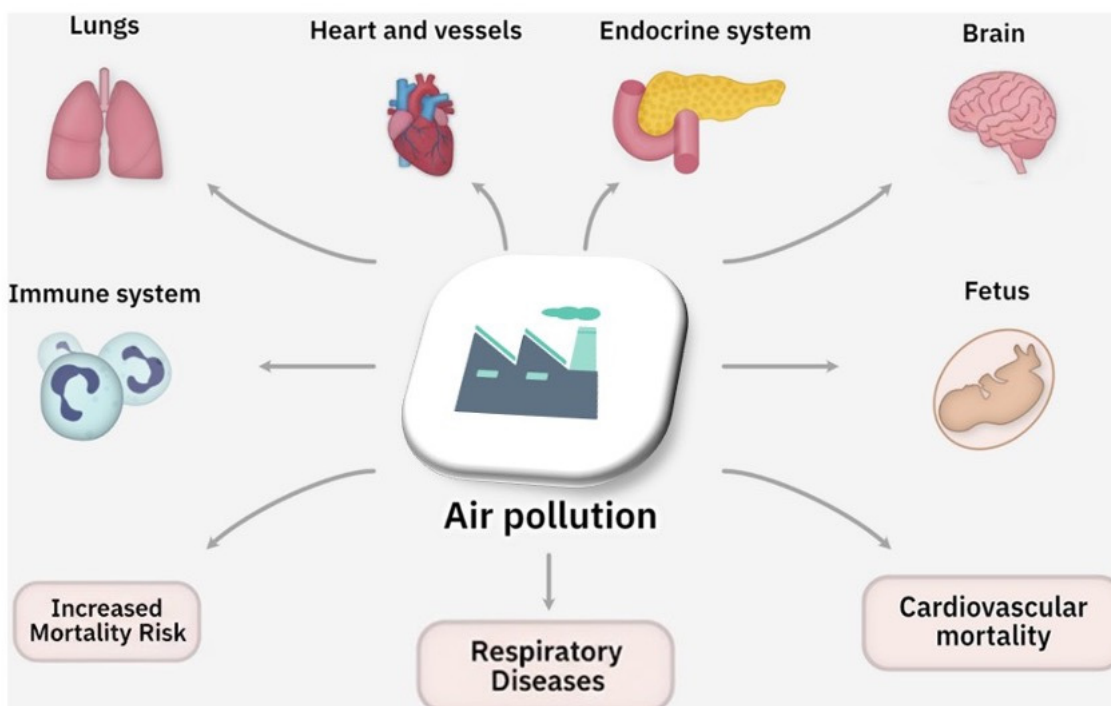


Figura 3.4 Efectele adverse ale poluării aerului asupra sănătății umane

## Impacturi asupra sistemelor de organe specific

### Sistemul respirator

Poluanții aeropurtați — precum monoxidul de carbon, ozonul ( $O_3$ ), dioxidul de azot ( $NO_2$ ), dioxidul de sulf ( $SO_2$ ), materialul particulat și metalele grele — pot duce atât la boli respiratorii acute, cât și cronice, inclusiv bronșită, pneumonie, BPOC și astm (Shetty, 2023). Expunerea prelungită poate provoca leziuni structurale permanente ale plămânilor, poate împiedica creșterea pulmonară la copii și poate crește riscul de cancer pulmonar (Schraufnagel, 2019).

Mediul înconjurător este o sursă de expuneri potențial dăunătoare pentru sănătatea umană. Se estimează că aproximativ 7% din povara anuală a bolilor în Europa este asociată cu factori de risc de mediu. În special, numeroase studii au evidențiat rolul nociv al poluării aerului, documentând un spectru larg de efecte asupra sănătății. Cu aproximativ 7 milioane de decese premature estimate, poluarea aerului este

considerată principala cauză de mediu a bolilor și a deceselor la nivel mondial. Termenul „poluarea aerului” se referă la un amestec de gaze și particule conținute în aerul pe care îl respirăm. Poluarea aerului este generată atât de activități umane (emisii ale vehiculelor, procese industriale, încălzirea clădirilor), cât și de evenimente naturale (incendii de pădure, erupții vulcanice, furtuni de praf). Poluanții atmosferici pot fi transportați pe mii de kilometri, afectând calitatea aerului chiar și în locuri îndepărtate de sursa lor. Totuși, nivelurile de poluare sunt, în general, mai ridicate în zonele apropiate sursei de emisii. Se estimează că astăzi peste 90% dintre persoanele care trăiesc în zone urbane sunt expuse la niveluri de poluanți atmosferici mai mari decât cele indicate de Ghidurile Organizației Mondiale a Sănătății (OMS).

Poluanții atmosferici pot fi clasificați ca primari sau secundari, în funcție de modul în care se formează. Poluanții primari sunt emiși direct de procese induse de om, cum ar fi monoxidul de carbon emis din evacuarea unui vehicul sau dioxidul de sulf emis de fabrici. Poluanții secundari se formează atunci când poluanții primari reacționează în atmosferă. Un poluant secundar foarte important este ozonul, care ia naștere din reacții chimice între poluanții primari și lumina solară.

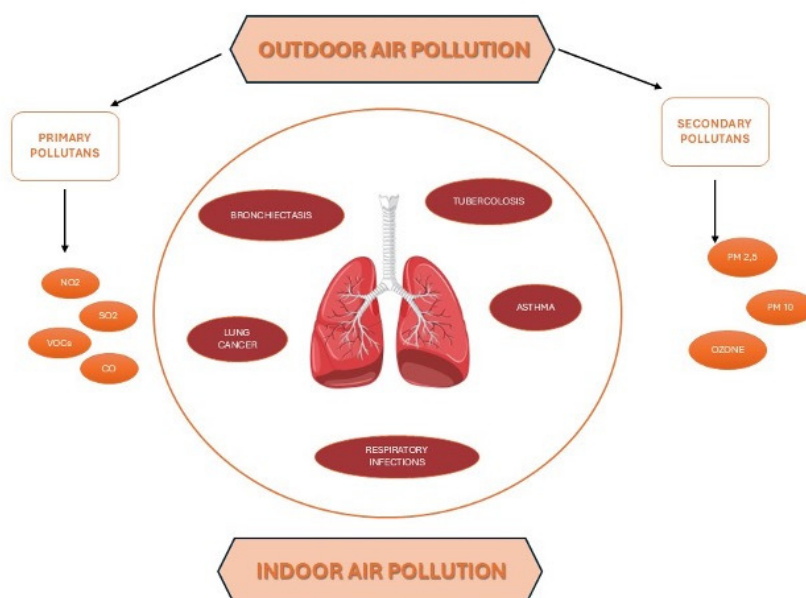


Figura 3.5 Expunerea la poluarea aerului—factorul de risc (in)vizibil pentru bolile respiratorii



Pe lângă poluarea exterioară, poluarea interioară reprezintă de asemenea un risc semnificativ pentru sănătate. Calitatea aerului interior este afectată atât de surse externe, cât și interne de poluare. Sursele externe derivă din poluanții exteriori care pătrund de obicei prin ferestre deschise, în timp ce sursele interne pot proveni din procese de combustie sau pot include materiale de construcție, mobilier și produse de curățenie casnică utilizate frecvent. Mediul interior contribuie, prin urmare, în mod semnificativ la expunerea la poluanți, dintre care mulți au concentrații mai mari în interior decât în exterior.

### Sistemul cardiovascular

Mai multe studii au arătat că poluarea aerului nu afectează doar plămânii, ci poate de asemenea dăuna inimii. Acum, un nou studiu internațional merge cu un pas mai departe, arătând cum nu doar poluarea aerului, ci și poluarea solului și a apei sunt strâns legate de bolile cardiovasculare (Münzel, 2025). Particulele fine în suspensie ( $PM_{2.5}$ ) și poluanți similari pot constrânge vasele de sânge, slăbi mușchiul cardiac și promova procese inflamatorii care contribuie la ateroscleroză, hipertensiune și infarct miocardic (Dai, 2024). La nivel global, se estimează că poluarea aerului este responsabilă pentru 19% dintre decesele cardiovasculare și 21% dintre decesele prin accident vascular cerebral (Schraufnagel, 2019).

Poluarea cu metale grele, pesticide și micro- și nanoplastice poate dăuna sistemului cardiovascular, provocând stres oxidativ, inflamație și perturbând ritmurile circadiene. Expunerea la substanțe chimice toxice, precum metale grele, solvenți, dioxine și pesticide, poate apărea la locul de muncă, prin produse casnice comune sau prin contaminare ambientală, contribuind la disfuncția vaselor de sânge și la dezvoltarea bolilor cardiovasculare. Contaminarea solului este o amenințare mult mai puțin vizibilă pentru sănătatea umană decât aerul murdar, dar dovezile în creștere demonstrează că poluanții din sol și apă pot afecta sănătatea cardiovasculară. Acest lucru se produce prin câteva mecanisme centrale care au fost identificate ca factori cheie în procesul aterosclerotic, cum ar fi inflamația sistemului vascular, creșterea stresului oxidativ.

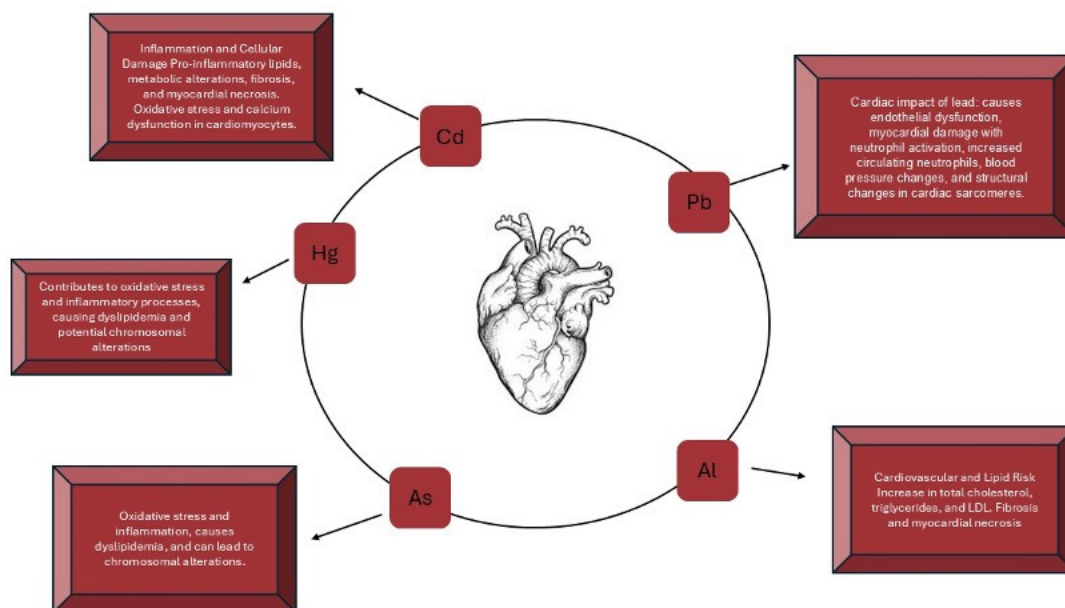


Figura 3.6 Impactul poluării mediului asupra bolilor cardiovasculare

## Sistemul nervos

Sistemul nervos este vulnerabil la poluare și la expunerea din mediu la substanțe nocive, cunoscute sub denumirea de neurotoxine. Efectele acestor molecule pot afecta funcționarea și integritatea țesutului nervos până în punctul de a contribui la dezvoltarea anumitor tulburări ale sistemului nervos.

Se estimează că aproximativ 30% din toate substanțele chimice sintetice au proprietăți neurotoxice și, din păcate, majoritatea substanțelor utilizate sau eliberate în mediu nu au dovezi solide privind siguranța lor.

Neurotoxinele din mediu sunt numeroase, incluzând, de exemplu, pesticide piretroide și organoclorurate, precum și nanoplastice.

Poluanții din aer sunt asociați cu performanțe cognitive reduse la copii și riscuri crescute de demență și accident vascular cerebral la adulți în vârstă (Dai, 2024). Se consideră că aceste efecte rezultă din stres oxidativ și inflamație în țesutul neural, care pot accelera procesele neurodegenerative.



Expunerea și acumularea ulterioară excesivă de metale în organism pot provoca repercusiuni toxicologice. În special, evenimentele acute accidentale sau, mai frecvent, expunerea ambientală sau profesională pot afecta negativ sistemul nervos. Metalele cel mai frecvent implicate sunt mercurul, plumbul, arsenul, cadmiul și manganul.

Principalele surse de expunere includ apa sau alimentele contaminate, expunerea profesională (de exemplu, oțelării), amalgamul dentar, fumatul, aliajele metalice, pigmenții, bateriile, insecticidele și vopselele de păr.

Mai multe studii evidențiază o posibilă asociere a organofosfaților cu anumite boli neurodegenerative. Aceste substanțe pot interfera cu funcția neuronală și acțiunea neurotransmițătorilor, precum și pot promova stresul oxidativ și neuroinflamația, care este inflamația sistemului nervos. În plus, unele cercetări sugerează că expunerea la organofosfați poate crește riscul de răspunsuri autoimune la unele persoane, afectând potențial structura și funcția transducerii nervoase.





## AIR POLLUTION & NEURODEGENERATION: The Microglia Link

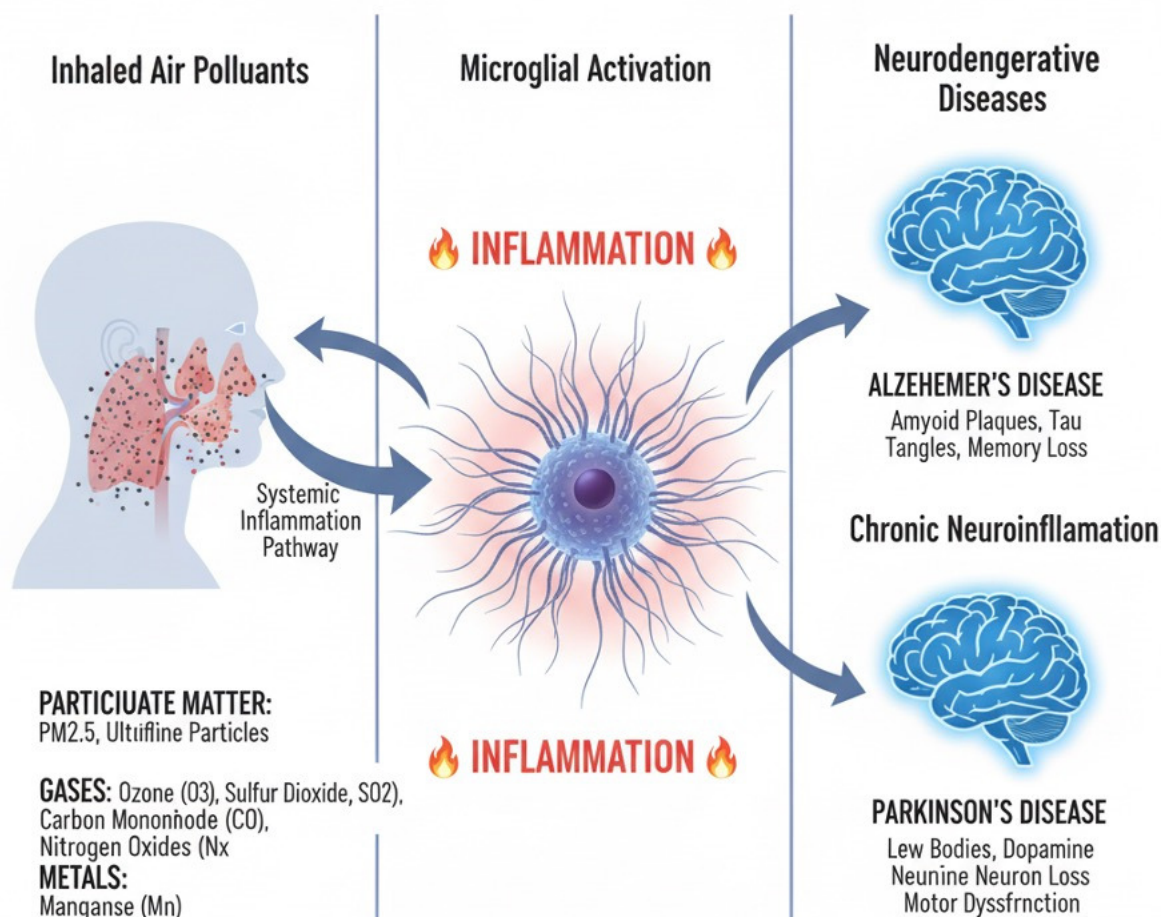


Figura 3.7 Poluarea aerului crește neuroinflamația, în special activarea microglială, care poate fi un mecanism cheie implicat în boala Alzheimer (AD) și boala Parkinson (PD) induse de poluarea aerului

### Sistemul endocrin

Un grup specific de contaminanți cunoscuți sub denumirea de substanțe chimice perturbatoare endocrine (EDC-uri) poate interfera cu producția de hormoni, metabolismul și legarea de receptori (Kumar, 2020). Expunerea a fost asociată cu probleme reproductive și de dezvoltare, modificări ale sistemului imunitar și un risc crescut de cancer sensibil la hormoni.



Perturbatorii endocrini (ED-uri) includ o gamă largă de substanțe chimice care pot altera echilibrul hormonal al organismelor vii, inclusiv al oamenilor. ED-urile interferează cu semnalele biochimice normale eliberate de glandele endocrine ale organismului nostru, care reglează funcții extrem de delicate: sistemul imunitar, funcția anumitor glande endocrine (de exemplu, tiroida), metabolismul, funcțiile reproductive și funcțiile neuropsihiatrice.

Patologiile induse de expunerea frecventă la doze minime de ED-uri includ: tulburări tiroidiene și de neurodezvoltare (tulburări cognitive, comportamentale și relaționale), creșterea ratei de avort spontan, fertilitate redusă, anomalii genitale și reproductive, endometrioză, obezitate și diabet de tip 2, tumori și boli mediate imun. ED-urile acționează insidios, chiar și la doze minime, în special în etape cruciale ale dezvoltării, precum viața intrauterină sau copilăria timpurie. Expunerea la ED-uri poate, de asemenea, provoca alterări ale gametelor (spermatozoizi și ovule), rezultând riscuri pentru sănătate care ar putea fi transmise de-a lungul generațiilor. Substanțele chimice perturbatoare endocrine includ dioxinele, PCB-urile (bifenili policlorurați) și diverse pesticide, precum și substanțe găsite în mediul nostru cotidian și în produsele de consum, cum ar fi retardanții de flacără, ftalații și bisfenolul A.



## LACCASE-MEDIATED BIOTRANSFORMATION OF EDCS

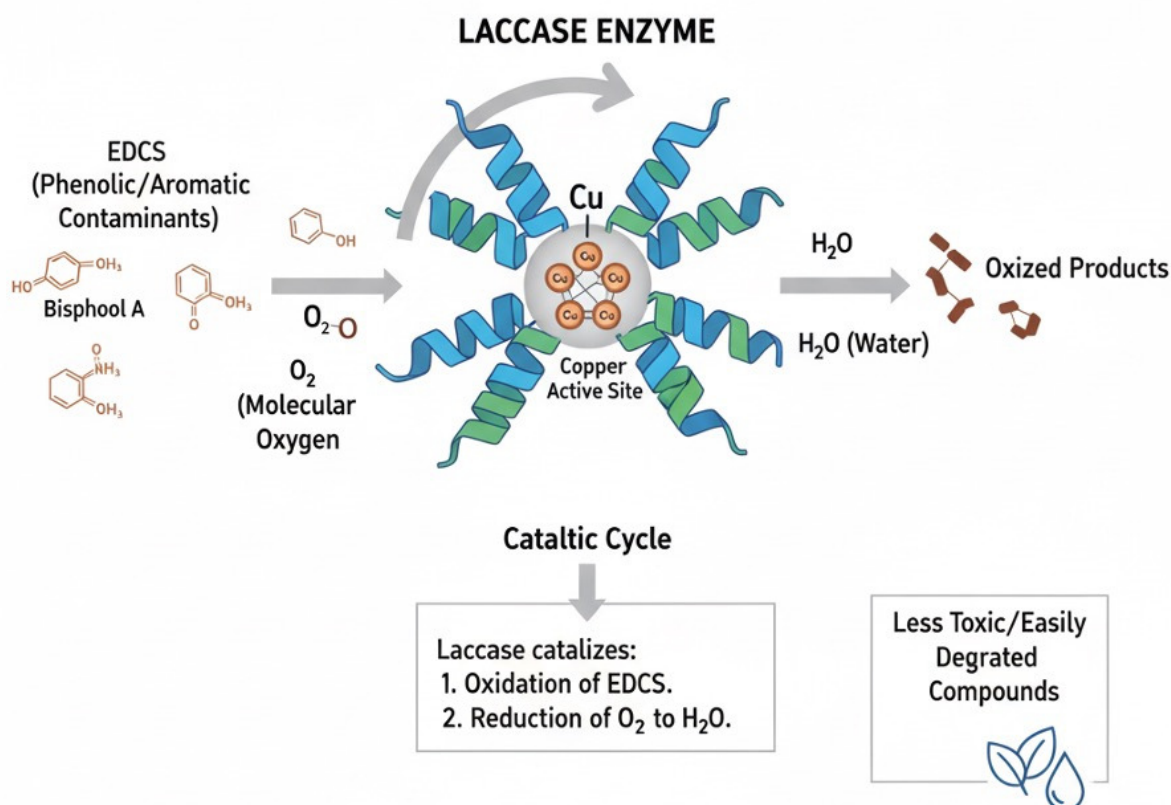


Figura 3.8 Substanțe chimice cu efect de perturbare endocrină (EDC) în matrici de mediu

### Boli și tulburări cronice

Boli respiratorii: Expunerea pe termen lung la poluare este un factor de risc major pentru BPOC și astm și este legată de creșterea mortalității din aceste afecțiuni.

Tulburări metabolice: Poluanții pot induce stres oxidativ și inflamație, ducând la rezistență la insulină și la o probabilitate mai mare de diabet de tip 2 (Dai, 2024).

Tulburări neurologice: Expunerea continuă este conectată cu boala Alzheimer, demență și alte afecțiuni degenerative ale creierului prin mecanisme inflamatorii și oxidative.



Cancer: Materialul particulat fin ( $PM_{2.5}$ ) este recunoscut ca un carcinogen, contribuind la cancere pulmonare, ale vezicii urinare și la anumite cancere pediatrice (Schraufnagel, 2019). Perturbarea endocrină: EDC-urile pot altera momentul pubertății, pot afecta fertilitatea, pot reduce calitatea spermei și pot crește riscurile de malignități sensibile la hormoni (Kumar, 2020).

În rezumat, contaminanții de mediu afectează sănătatea umană prin multiple căi, vizând adesea mai mult de un sistem de organe în același timp. Interacțiunea dintre diverși poluanți poate intensifica efectele lor nocive, subliniind nevoia urgentă de politici integrate de sănătate a mediului și de strategii de control al poluării.

### 3.3 Căile de expunere

Înțelegerea modului în care contaminanții de mediu pătrund în organismul uman este esențială pentru evaluarea corectă și atenuarea riscurilor pentru sănătate asociate. Această secțiune descrie mecanismele principale prin care toxicanții de mediu sunt eliberați, transportați și ajung în cele din urmă la populațiile umane.

#### Eliberarea și transportul în mediu

Contaminanții pot fi introduși în mediu prin procese industriale, activități agricole, eliminarea deșeurilor și alte acțiuni antropice. Odată eliberați, ei se pot deplasa prin diferite compartimente de mediu:

- Aer - Poluanții pot fi emisi direct în atmosferă sau pot volatiliza din sol și apă. Curente de aer pot transporta aceste substanțe pe distanțe lungi (United States Environmental Protection Agency, 2024a).
- Apă - Contaminanții pot intra în râuri, lacuri și oceane prin deversare directă, scurgere de la suprafață sau infiltrare în apele subterane. Corpurile de apă nu funcționează doar ca sisteme de transport, ci servesc și ca puncte de expunere umană (United States Environmental Protection Agency, 2024b).



- Sol și sedimente - Poluanții se pot depune și acumula în soluri prin depunere atmosferică sau irigare cu apă contaminată. Solul poate acționa ca un rezervor pe termen lung, eliberând ulterior contaminanți înapoi în aer sau apă (Alharbi et al., 2018).

#### Căi de expunere umană

Oamenii pot fi expuși la toxicanți de mediu prin trei căi principale:

- Inhalare - Inspirarea aerului contaminat care conține gaze, vapori, aerosoli sau material particulat. Aerul interior poate fi, de asemenea, afectat atunci când poluanții exteriori pătrund în clădiri (United States Environmental Protection Agency, 2024c).
- Ingestie - Înghițirea contaminanților prezenți în alimente, apă potabilă sau particule de sol și praf. Aceasta include ingestia accidentală de sol la copii și transferul mână–gură al reziduurilor (United States Environmental Protection Agency, 2024b; New Hampshire Department of Environmental Services, 2024).
- Contact dermic - Contact direct al pielii cu sol, apă sau produse de consum contaminate cu substanțe chimice periculoase. Expunerea profesională este un contributor frecvent la absorbția dermică (New Hampshire Department of Environmental Services, 2024).

#### Factori care influențează expunerea

Mărimea și severitatea expunerii depind de mai mulți factori:

- Durata - Expunerea pe termen scurt (acută) vs. pe termen lung (cronică) afectează diferit rezultatele asupra sănătății.
- Intensitatea - Concentrații mai mari de contaminanți cresc riscul potențial.
- Frecvența - Expunerea repetată poate compune efectele asupra sănătății.
- Susceptibilitatea individuală - Anumite grupuri, inclusiv femeile însărcinate, copiii, vârstnicii și persoanele imunocompromise, sunt mai vulnerabile (New Hampshire Department of Environmental Services, 2024).



## Bioacumulare și biomagnificare

Poluanții organici persistenti și metalele grele se pot acumula în timp în țesuturile organismului prin bioacumulare. Când acești contaminanți trec de-a lungul lanțului trofic, ei se pot concentra mai mult la niveluri trofice superioare — un proces cunoscut sub numele de biomagnificare (United States Environmental Protection Agency, 2024b).

## Evaluarea expunerii

Evaluarea expunerii umane implică:

- Identificarea surselor de contaminare
- Urmărirea transportului și soartei în mediu
- Determinarea punctelor și căilor de expunere
- Definirea populațiilor la risc

Aceste evaluări permit clasificarea căilor de expunere ca finalizate, potențiale sau eliminate, oferind baza pentru strategii eficiente de management al riscului (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2024).

### 3.4 Evaluarea contaminanților

Schimbările climatice, poluarea mediului, pierderea biodiversității și utilizarea nesustenabilă a resurselor naturale, împreună, prezintă riscuri semnificative pentru sănătatea oamenilor, a animalelor și a ecosistemelor. Aceste amenințări includ boli transmisibile și netransmisibile, rezistență antimicrobiană și penurie de apă. Asigurarea unei planete sănătoase pentru toți necesită monitorizare, raportare, prevenire și remediere mai eficiente ale poluării care afectează aerul, apa, solul și mărfurile (European Commission, 2021). Dimensiunea problemei poluării poate fi redusă considerabil prin acțiune guvernamentală puternică, infrastructură avansată și aplicarea tehnologiilor moderne. Totuși, atingerea obiectivului unui mediu curat este împiedicată de mai multe provocări, inclusiv implicarea insuficientă a publicului în inițiativele de control al poluării și inadecvările din sistemele de management ecologic. Abordarea eficientă a poluării necesită utilizarea celor mai noi soluții tehnologice și





cercetări direcționate pentru a înțelege mai bine mecanismele prin care contaminanții se acumulează în mediu. Contaminarea alimentelor rămâne o preocupare critică, deoarece concentrațiile chimice ridicate în produsele comestibile reprezintă pericole serioase pentru sănătate. Contaminanții din alimente pot fi prezenți în mod natural în mediu sau introduși prin activități umane. În plus, contaminarea poate apărea în mai multe puncte de-a lungul lanțului alimentar — în timpul producției, procesării, ambalării, transportului și depozitării (Rather et al., 2017).

Provocările privind siguranța alimentelor pot fi grupate în patru categorii cheie:

- Siguranță microbiologică
- Siguranță chimică
- Igienă personală
- Igienă a mediului

Odată cu globalizarea comerțului cu alimente, alimentele au devenit o cale majoră de expunere a oamenilor la microorganisme patogene responsabile de bolile de origine alimentară, putând intra în diverse etape ale lanțului valoric. Urmărirea și detectarea acestor agenți patogeni — în special bacteriile — până la sursele lor rămâne o provocare pentru producători, procesatori, distribuitori și consumatori deopotrivă. Siguranța alimentară și nutriția sunt strâns interconectate. Alimentele nesigure pot declanșa un cerc vicios al bolii și malnutriției, afectând disproporționat sugarii, copiii mici, vârstnicii și persoanele cu sănătate compromisă. Deoarece lanțurile de aprovizionare cu alimente traversează acum multiple frontiere naționale și regionale, asigurarea siguranței alimentelor în secolul XXI va necesita o colaborare strânsă între guverne, producători, furnizori, distribuitori și consumatori (Fung et al., 2018). În ultimii ani, au fost dezvoltate diverse metode analitice pentru detectarea contaminanților în diferite matrici. Deoarece contaminanții sunt adesea prezenți la concentrații extrem de mici, este necesară o limită de detecție foarte scăzută, iar pregătirea probei devine esențială pentru a reduce efectele de matrice în analiza alimentelor. Pregătirea probei poate implica pași multipli — cum ar fi filtrarea, ajustarea pH-ului, extracția, purificarea și îmbogățirea — pentru a asigura detectarea analiților la niveluri de concentrație adecvat.

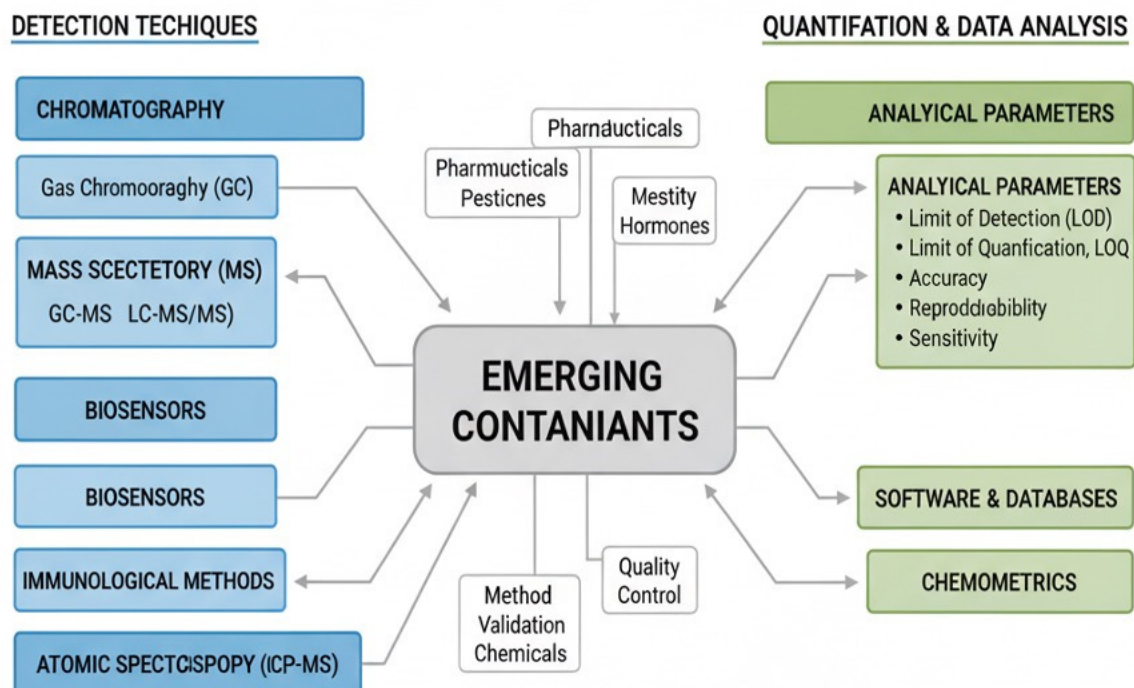


Figura 3.9 Tehnici pentru detectarea și cuantificarea contaminanților emergenți

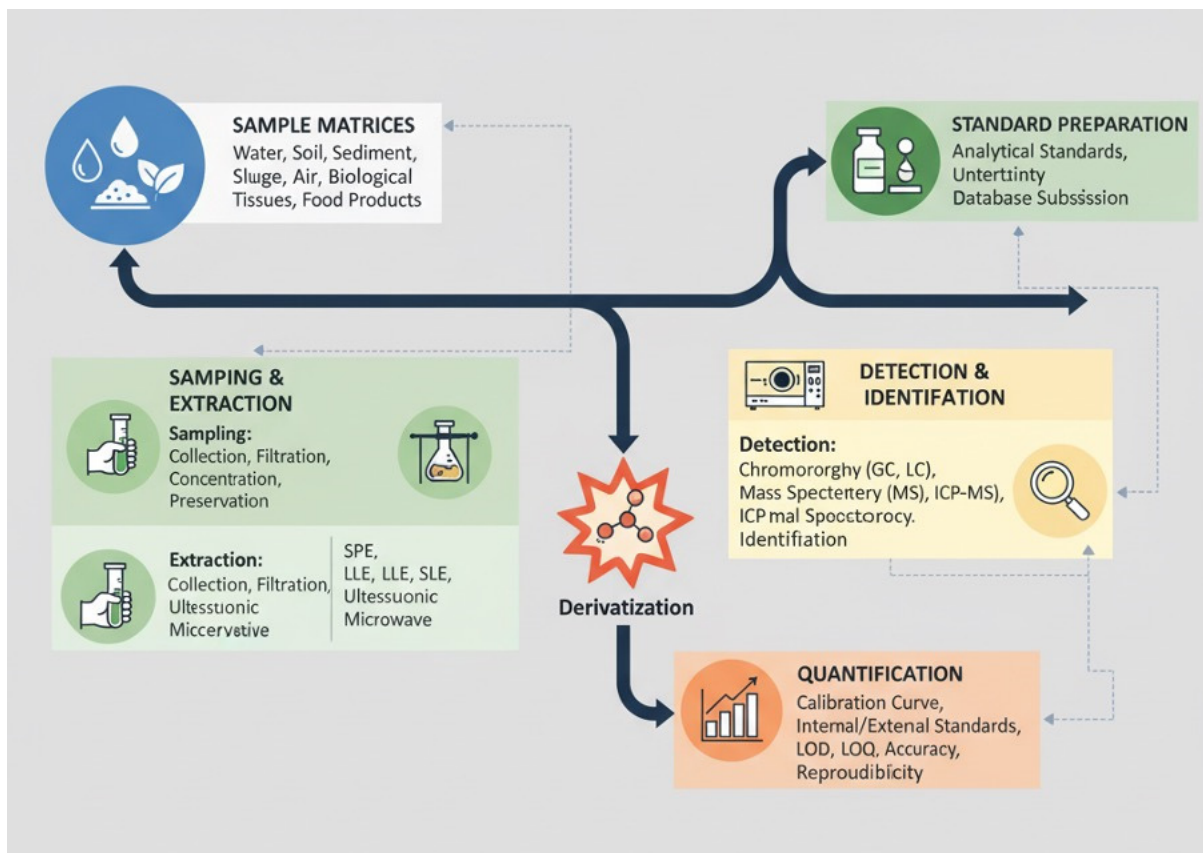


Figura 3.10 Flux de lucru general pentru analiza contaminanților

Este disponibilă acum o gamă largă de tehnici de pregătire a probelor, incluzând extracție cu fluid supercritic, extracție în fază solidă, microextracție în fază solidă, extracție asistată de microunde, extracție lichid-lichid, microextracție în fază lichidă, extracție cu lichid presurizat și extracție sorptivă cu bară de agitare (Guo et al., 2019).

### 3.5 Metode verzi inovatoare pentru reducerea efectelor toxice ale contaminanților

Chimia verde, cunoscută și ca chimie sustenabilă, este o abordare modernă în științele chimice care a evoluat semnificativ începând cu anii 1990. Ea este definită ca „utilizarea tehnicilor și metodologiilor chimice care reduc sau elimină utilizarea sau generarea de materii prime, produse, subproduse, solvenți și reactivi care sunt periculoși pentru sănătatea umană sau pentru mediu” (United States Environmental



Protection Agency). În esență, această filozofie se bazează pe sustenabilitate, sintetizată în douăsprezece principii fundamentale:

- Prevenire – Evitarea generării de deșeuri, mai degrabă decât tratarea sau eliminarea lor după creare.
- Economia atomilor – Proiectarea metodelor de sinteză astfel încât să încorporeze cât mai mult din materiile prime în produsul final.
- Sinteze mai puțin periculoase – Utilizarea proceselor care folosesc și generează substanțe cu toxicitate minimă.
- Conceperea unor substanțe chimice mai sigure – Păstrarea funcționalității chimice, minimizând totodată toxicitatea.
- Solvenți și auxiliari mai siguri – Evitarea substanțelor auxiliare (de ex., solvenți) acolo unde este posibil sau transformarea lor în nepericuloase când sunt necesare.
- Eficiență energetică – Minimarea cerințelor de energie; efectuarea reacțiilor la temperatură și presiune ambientală când este fezabil.
- Materii prime regenerabile – Utilizarea materiilor prime regenerabile, mai degrabă decât a celor epuizabile, atunci când este tehnic și economic viabil.
- Reducerea derivaților – Evitarea pașilor inutili de derivatizare care necesită reactivi suplimentari și generează deșeuri.
- Cataliză – Utilizarea reactivilor catalitici, care sunt mai eficienți decât cei stoechiometrici.
- Proiectare pentru degradare – Asigurarea faptului că produsele se descompun în substanțe inofensive la sfârșitul ciclului lor de viață.
- Analiză în timp real – Dezvoltarea tehnicilor de monitorizare pentru a detecta și preveni substanțele periculoase în timpul procesării.
- Chimie inerent mai sigură – Selectarea substanțelor și a formelor de proces care reduc riscul de accidente precum explozii sau emisii.



## Alternative sustenabile la îndepărtarea convențională a poluanților

Prezența în creștere a poluanților — incluzând metale grele, compuși organici, produse farmaceutice și contaminanți emergenți — reprezintă riscuri semnificative pentru mediu și sănătatea publică. Metodele tradiționale de îndepărtare, precum precipitarea chimică, schimbul ionic și filtrarea pe membrană, se confruntă adesea cu limitări, incluzând costuri ridicate, cerințe mari de energie și generarea de poluanți secundari.

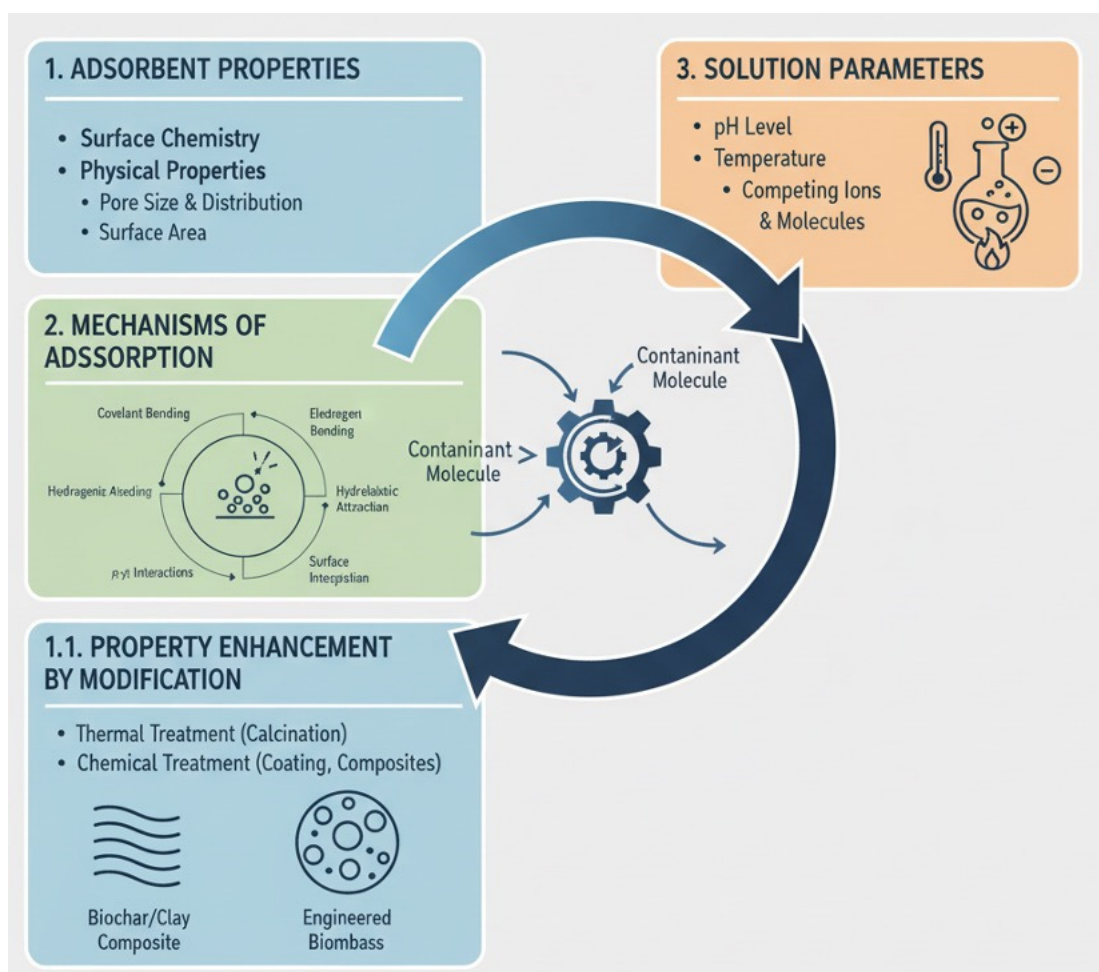


Figura 3.11 Factori care influențează capacitatea de adsorbție a adsorbanților cu cost redus

Cercetări recente evidențiază potențialul adsorbanților neconvenționali ca alternative mai sustenabile. Materiale precum nanoceluloza, nanocompozitele pe bază de chitosan și cadrele metal–organice (MOF-uri) au demonstrat performanțe superioare în ceea ce privește capacitatea de adsorbție, selectivitatea și reutilizabilitatea, făcându-le atractive pentru aplicații de mediu (Akhtar et al., 2024).

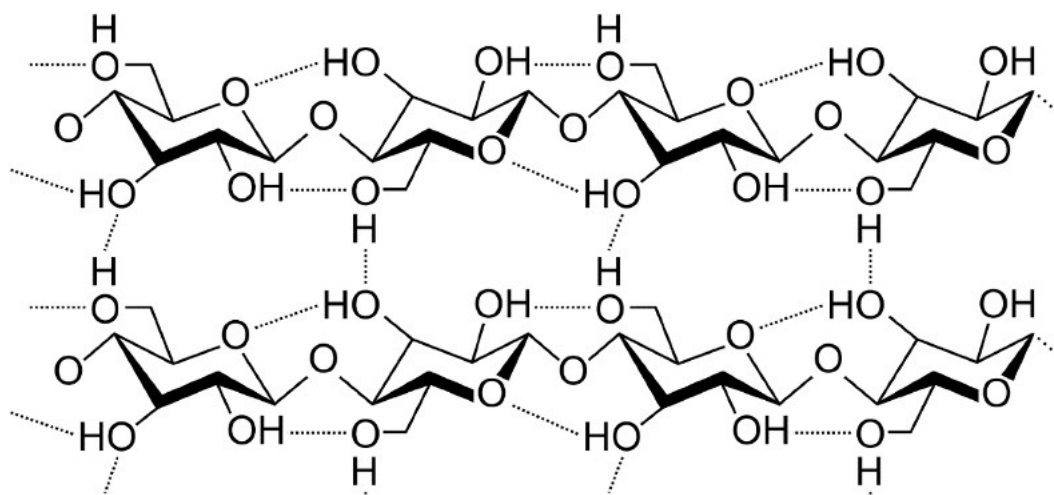


Figura 3.12 Structura chimică a celulozei și legăturile sale de hydrogen

## Soluții de chimie verde

### 1. Solvenți și condiții de reacție mai sigure

Înlocuirea solvenților periculoși cu alternative mai sigure este o inovație majoră în chimia verde. De exemplu, vopselele pe bază de apă au înlocuit acoperirile pe bază de solvenți, eliminând vaporii toxici și reducând poluarea aerului fără a compromite performanța. Rularea reacțiilor chimice la temperatură și presiune ambientale reduce suplimentar consumul de energie și minimizează pericolele.

Vopselele pe bază de apă au înlocuit în mare măsură acoperirile pe bază de solvenți în multe aplicații din cauza preocupărilor de mediu și sănătate. Reglementările guvernamentale axate pe reducerea compușilor organici volatili (COV) au impulsionat această schimbare, deoarece vopselele pe bază de apă emit semnificativ mai puțini COV. Deși vopselele pe bază de solvenți au fost cândva standardul, alternativele pe bază de apă sunt acum preferate pentru toxicitatea lor mai scăzută, timpii mai rapizi de uscare și impactul redus asupra mediului.

### 2. Materii prime regenerabile

Chimia verde prioritizează materiile prime derivate din resurse regenerabile, precum produsele secundare agricole, în locul combustibililor fosili sau materialelor extrase. Aceasta reduce impactul asupra mediului, conservă resursele neregenerabile și adesea duce la produse mai biodegradabile. O materie primă sau un material de bază





ar trebui să fie regenerabil(ă) mai degrabă decât epuizabil(ă) ori de câte ori este practic din punct de vedere tehnic și economic. Natura produce aproximativ 170 de miliarde de tone de biomasă vegetală anual; dintre care utilizăm în prezent aproximativ 3,5% pentru nevoile umane. Se estimează că aproximativ 40 de miliarde de tone de biomasă, sau aproximativ 25% din producția anuală, ar fi necesare pentru a genera pe deplin o economie bazată pe biomasă. Provocarea tehnică în utilizarea unor astfel de materii prime regenerabile este de a dezvolta căi cu consum redus de energie, netoxice, pentru a converti biomasa în substanțe chimice utile într-un mod care să nu genereze mai mult carbon decât este eliminat din „aerul subțire”.

### 3. Cataliză și economia atomilor

Catalizatorii permit ca reacțiile să aibă loc eficient cu deșeuri minime, înlocuind adesea reacții stoechiometrice care sunt utilizați în exces. În același timp, proiectarea reacțiilor pentru o economie a atomilor ridicată asigură că majoritatea materialelor de intrare sunt încorporate în produsul final. Un obiectiv principal al chimiei verzi este minimizarea sau, de preferință, eliminarea deșeurilor în fabricarea substanțelor chimice și a produselor conexe. Acest lucru necesită o schimbare de paradigmă în conceptul de eficiență în sinteza organică, de la unul axat pe randamentul chimic la unul care atribuie valoare minimizării deșeurilor. Care este cauza deșeurilor? Cheia stă în conceptul de economie a atomilor: „metodele sintetice ar trebui proiectate pentru a maximiza încorporarea tuturor materialelor utilizate în proces în produsul final”.

### 4. Proiectarea pentru degradare

Produsele sunt din ce în ce mai mult proiectate să se degradeze în substanțe inofensive după utilizare, reducând persistența în mediu și scăzând costurile de gestionare a deșeurilor periculoase. Practicienii chimiei verzi aspiră să optimizeze funcția comercială a unei substanțe chimice, minimizând în același timp pericolul și riscul acesteia. Compromisurile, sau abordările alternative, trebuie evaluate atunci când trăsăturile moleculare ce trebuie proiectate pentru funcția comercială se suprapun cu cele ce trebuie eliminate pentru a reduce pericolul și riscul.



## Remedierea biologică a metalelor grele

Industrializarea rapidă a intensificat contaminarea cu metale grele a solurilor la nivel mondial, prezentând amenințări ecologice și de sănătate serioase. Îndepărtarea și neutralizarea acestor contaminanți reprezintă acum o prioritate globală. Bioremedierea — utilizarea microorganismelor precum bacterii, microalge, drojdii și ciuperci — câștigă atenție ca alternativă ecologică și rentabilă, în special eficientă la concentrații mici de metale (Maqsood et al., 2022).

Adesea, sunt utilizate metode integrate care combină procese fizico-chimice și biologice pentru a obține rezultate optime pe întreg ciclul de tratare a metalelor grele. Aceste abordări restaurează mediile contaminate în sisteme mai sănătoase, care susțin viața, minimizând în același timp efectele secundare asupra mediului.

## Toxicologie verde

O disciplină emergentă numită Toxicologie verde oferă un cadru pentru integrarea principiilor toxicologiei în demersul de proiectare a unor substanțe chimice mai sigure, minimizând astfel potențiala toxicitate cât mai devreme posibil în producție. Toxicologia verde îmbină principiile chimiei verzi cu toxicologia pentru a asigura siguranța chimică încă din cele mai timpurii etape ale proiectării produsului (Maertens et al., 2024). Ea utilizează strategii moderne de testare fără animale, incluzând modele computaționale in silico, predicții bazate pe inteligență artificială și teste pe celule umane, permițând evaluări ale pericolelor mai rapide și mai rentabile comparativ cu testarea tradițională pe animale



Figura 3.13 Toxicologie verde: conectarea chimiei verzi și toxicologiei moderne

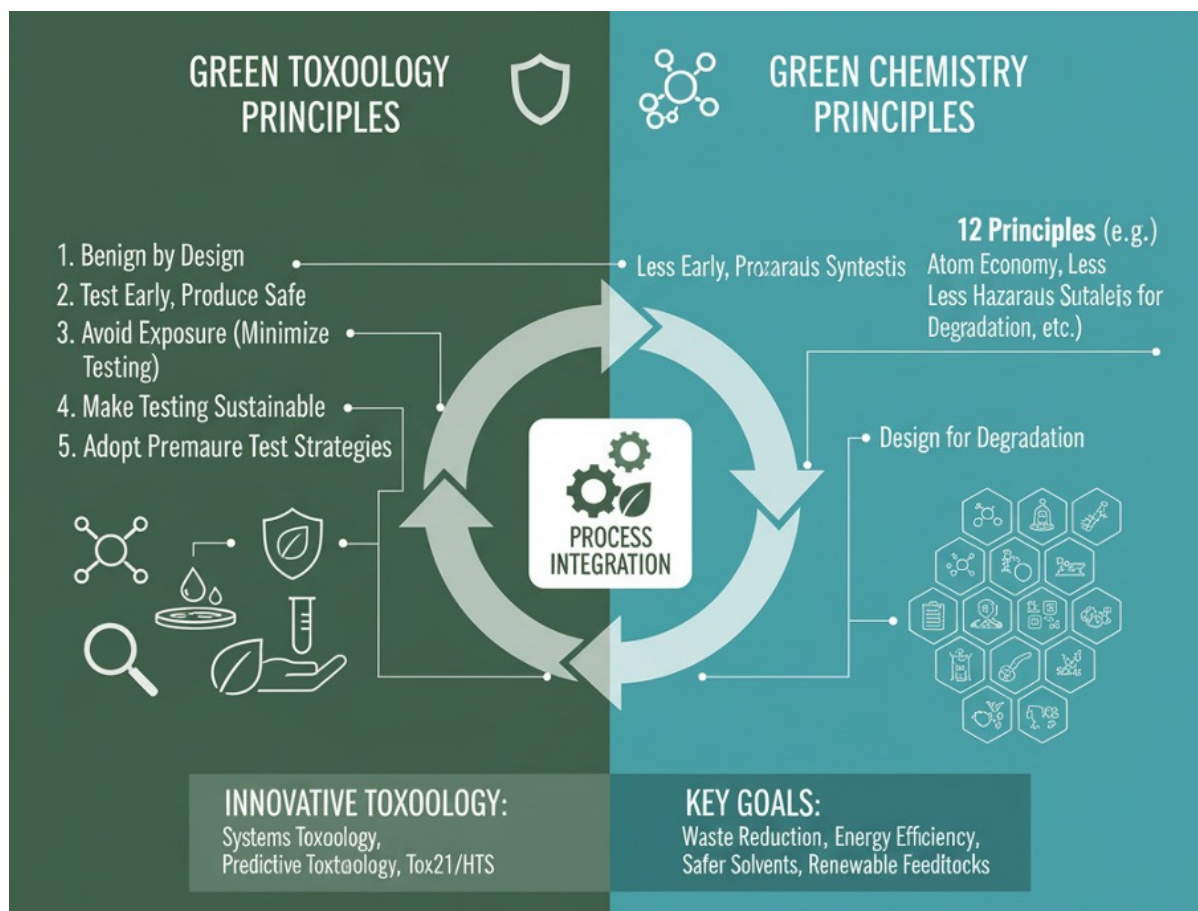


Figura 3.14 Principiile toxicologiei verzi și ale chimiei verzi și modul în care se integrează în procesul de producție chimică

Elementele cheie ale toxicologiei verzi includ:

- Aplicarea metodelor de testare alternative, validate.
- Integrarea considerentelor de siguranță încă din faza timpurie a proiectării chimice.
- Evaluarea impacturilor pe întreg ciclul de viață de-a lungul lanțurilor de aprovizionare.
- Prioritizarea prevenirii în detrimentul remedierii.
- Beneficiile chimiei verzi și ale toxicologiei
- Sănătatea umană
- Aer și apă mai curate prin reducerea emisiilor periculoase.
- Îmbunătățirea siguranței la locul de muncă în industriile chimice.



- Produse de consum și alimente mai sigure.
- Mediul
- Reducerea emisiilor de gaze cu efect de seră, a formării smogului și a epuizării ozonului.
- Minimizarea perturbărilor ecologice cauzate de poluarea chimică.
- Necesitate mai mică de eliminare a deșeurilor periculoase.
- Economic
- Randamente de reacție mai mari și costuri mai mici ale materiilor prime.
- Reducerea cheltuielilor cu eliminarea deșeurilor.
- Creșterea eficienței instalațiilor și economii de energie.
- Avantaj competitiv prin etichetarea produselor ecologice.

#### Provocări și direcții viitoare

Deși chimia verde și toxicologia oferă beneficii clare, adoptarea se confruntă cu bariere precum validarea noilor metode, acceptarea de către autoritățile de reglementare și rezistența instituțională la schimbare. Prioritățile viitoare ar trebui să includă:

- Extinderea portofoliului de metode alternative validate de testare.
- Integrarea conceptelor de chimie verde în educație și practica industrială.
- Crearea de stimulente de politică pentru inovație sustenabilă.
- Consolidarea colaborării dintre chimiști, toxicologi și oamenii de știință din domeniul mediului.

Metodele verzi inovatoare reprezintă o cale transformatoare pentru reducerea efectelor toxice ale contaminanților atât asupra sănătății umane, cât și asupra mediului. Prin integrarea principiilor chimiei verzi, adoptarea strategiilor de remediere biologică și aplicarea cadrelor de toxicologie verde, putem proiecta și implementa procese chimice mai sigure și mai sustenabile. Această abordare susține o viziune pe termen lung a unei planete mai curate, mai sănătoase și mai reziliente.



### 3.6 Bibliografie

Akhtar N, Khan A, Shah AA, Malik A, Al-Ghamdi AA, Alshahrani MY, et al. Nanocellulose, chitosan-based nanocomposites and MOFs for environmental remediation: recent advances and future prospects. *J Hazard Mater.* 2024;456:132769.

Alharbi O ML, Basheer AA, Khattab RA, Ali I. Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *J Mol Liq.* 2018;263:442-53.

Augusta University. *Air pollution deaths and global burden summary* [Internet]. Augusta (GA): Augusta University; 2023. Available from: <https://www.augusta.edu/>

Balbus JM, Boxall AB, Fenske RA, McKone TE, Zeise L. Implications of global climate change for the assessment and management of human health risks of chemicals in the natural environment. *Environ Toxicol Chem.* 2013;32(1):62-78.

Bălă G-P, Riviș M, Ciomag V, Vâță D, Voiculescu M, Dăscălescu A-E, et al. Air pollution exposure—the (in)visible risk factor for respiratory diseases. *Environ Sci Pollut Res.* 2021;28(16):19615-28.

Dai W, Xu W, Zhou J, Zhang Y, Wang Q, Liu X, et al. Individual and joint exposure to air pollutants and patterns of multiple chronic conditions. *Sci Rep.* 2024;14:22733.

de Oliveira Souza H, Brandt EMF, de Jesus Antunes A, Zimmermann R, Vaz BG, Alvarenga G. Pharmaceutical pollution and sustainable development goals: going the right way? *Sustain Chem Pharm.* 2021;21:100428.

Eniola JO, Farombi EO, Adewuyi GO, Osi VS, Okareh OT, et al. Application of conventional and emerging low-cost adsorbents as sustainable materials for removal of contaminants from water. *Environ Sci Pollut Res.* 2023;30(38):88245-71.

European Commission. *Pathway to a healthy planet for all: EU action plan “Towards zero pollution for air, water and soil”* [Internet]. Brussels: European Commission; 2021 [cited 2025 Oct 24]. Available from: [https://environment.ec.europa.eu/strategy/zero-pollution-action-plan\\_en](https://environment.ec.europa.eu/strategy/zero-pollution-action-plan_en)

European Environment Agency (EEA). *How air pollution affects our health* [Internet]. Copenhagen: EEA; 2023. Available from: <https://www.eea.europa.eu/en/topics/in-depth/air-pollution/eow-it-affects-our-health>





Fu C, Liu H, Li H, Wang L, Zhang W, Li W, et al. Different components of air pollutants and neurological disorders. *Front Public Health*. 2022;10:959921.

Fung F, Wang HS, Menon S. Food safety in the 21st century. *Biomed J*. 2018;41(2):88-95.

Guo W, Pan B, Sakkiyah S, Yavas G, Ge W, Zou W, et al. Recent advances in sample preparation techniques for analysis of food contaminants. *Trends Food Sci Technol*. 2019;85:68-82.

He Y, Chen Z, Zhang X, Li J, Zhao Y, et al. Chitosan/nanocellulose-coated MOF nanocarriers for camptothecin delivery. *Int J Biol Macromol*. 2025;242:146601.

Ismanto A, Pratiwi R, Nurhayati E, Suwirma S, et al. Endocrine-disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: occurrence, fate, health impact, physico-chemical and bioremediation technology. *Environ Pollut*. 2022;302:119061.

Konduracka E, Rostoff P. Links between chronic exposure to outdoor air pollution and cardiovascular diseases: a review. *Environ Chem Lett*. 2022;20(5):2971-88.

Kumar M, Sarma DK, Shubham S, Kumawat M, Verma V, Prakash A, et al. Environmental endocrine-disrupting chemical exposure: role in non-communicable diseases. *Front Public Health*. 2020;8:553850.

Kumar R, Taki A, Sinha R, Prasad P, Kaur R, et al. Micro- and nanoplastics pollution and human health: how plastics can induce carcinogenesis to humans? *Chemosphere*. 2022;298:134267.

Maertens A, Luechtefeld T, Knight J, Hartung T. Alternative methods go green! Green toxicology as a sustainable approach for assessing chemical safety and designing safer chemicals. *ALTEX*. 2024;41(1):3-19.

Maqsood M, Basit A, Naz S, Javed MT, Zubair M, Rizwan M, et al. Microbial bioremediation of heavy metals: current status and future prospects. *Chemosphere*. 2022;291(Pt 1):132979.

Münzel T, Hahad O, Lelieveld J, et al. Soil and water pollution and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2025;22:71-89.

Naidu R, Espinoza L, Ramanathan R, et al. Chemical pollution: a growing peril and potential catastrophic risk to humanity. *Environ Int*. 2021;156:106616.



New Hampshire Department of Environmental Services (NHDES). *Human exposure pathways: dermal contact* [Internet]. Concord (NH): NHDES; 2024. Available from: <https://www.des.nh.gov/>

New Hampshire Department of Environmental Services (NHDES). *Human exposure pathways: ingestion route* [Internet]. Concord (NH): NHDES; 2024. Available from: <https://www.des.nh.gov/>

Rather IA, Koh WY, Paek WK, Lim J. The sources of chemical contaminants in food and their health implications. *Front Pharmacol*. 2017;8:830.

Schraufnagel DE, Balmes JR, Cowl CT, De Matteis S, Jung SH, Mortimer K, et al. Air pollution and non-communicable diseases: a review by the Forum of International Respiratory Societies' Environmental Committee. *Chest*. 2019;155(2):417-26.

Scimeca M, Bonfiglio R, Tancredi V, Bonanno E. Impact of environmental pollution on cardiovascular diseases: from epidemiological to molecular evidence. *Heliyon*. 2024;10(18):e26038.

Shetty SS, D D, S H, Sonkusare S, Naik PB, Kumari NS, et al. Environmental pollutants and their effects on human health. *Heliyon*. 2023;9(9):e19496.

Shyamalagowri S, Sudhakar S, Senthilkumar P, et al. Techniques for the detection and quantification of emerging contaminants. *Phys Sci Rev*. 2023;8(9):2191-2218.

Sokan-Adeaga AA, Adeboye S, Adediran O, et al. Human exposure pathways and toxicological effects of environmental contaminants: a global review. *J Environ Health Sci Eng*. 2023;21(5):987-1003.

United Nations Environment Programme (UNEP). *Towards a pollution-free planet: global outlook and solutions* [Internet]. Nairobi: UNEP; 2023. Available from: <https://www.unep.org/resources/towards-pollution-free-planet>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Basics of green chemistry* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2023. Available from: <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Benefits of green chemistry* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2023. Available from: <https://www.epa.gov/greenchemistry/benefits-green-chemistry>



United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Environmental release and transport: air pathway overview* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2024. Available from: <https://www.epa.gov/air-research>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Environmental release and transport: water pathway overview* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2024. Available from: <https://www.epa.gov/water-research>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Exposure assessment tools by exposure route: inhalation* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2024. Available from: <https://www.epa.gov/expobox/exposure-assessment-tools-routes-inhalation>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Exposure assessment tools by exposure route: ingestion* [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2024. Available from: <https://www.epa.gov/expobox/exposure-assessment-tools-routes-ingestion>

World Bank. *The impact of lead exposure on human capital and the global economy: updated estimates* [Internet]. Washington (DC): World Bank; 2023. Available from: <https://blogs.worldbank.org/en/climatechange/chemical-pollution-next-global-crisis>

World Health Organization (WHO). *Climate change, pollution and health – Impact of chemicals, waste and pollution on human health* [Internet]. Geneva: WHO; 2023 Dec. Available from: <https://www.who.int/publications>



## CAPITOLUL 4. ROLUL ALIMENTAȚIEI SĂNĂTOASE ȘI UTILIZAREA APROBATĂ A SUPLIMENTELOR ALIMENTARE SIGURE: ABORDĂRI INOVATOARE ȘI EVALUAREA CONȘTIENTIZĂRII

### 4.1 Introducere

Nutriția este o piatră de temelie a sănătății umane, modelând creșterea, competența imună, performanța cognitivă și riscul pe tot parcursul vieții pentru bolile infecțioase și necomunicabile. Totuși, lumea se confruntă acum cu o „dublă povară” a malnutriției: subnutriția persistă în timp ce supraponderalitatea și obezitatea au crescut accentuat—tipare documentate în Global Nutrition Report 2020 (Global Nutrition Report, 2020). Îmbunătățirea calității dietei prin alimente integrale (legume, fructe, cereale integrale, leguminoase, nuci, semințe și uleiuri sănătoase) rămâne cea mai eficientă strategie la nivel populațional, așa cum este reflectat în principalele cadre de ghiduri dietetice (U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture, 2020).

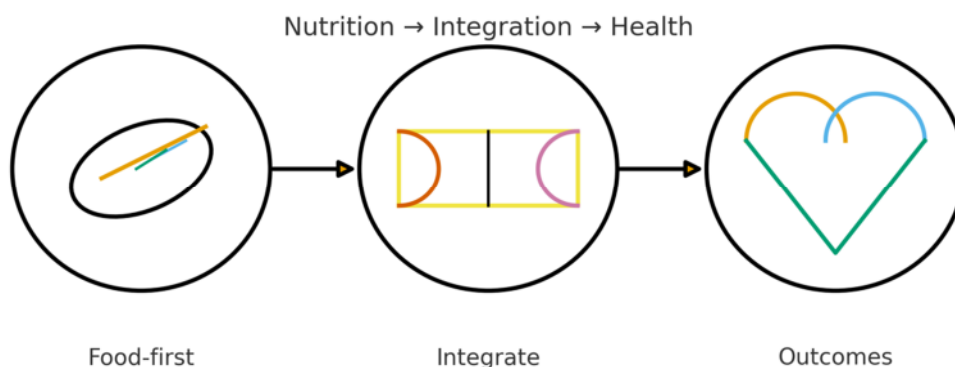


Figura 4.1 Reprezentare schematică a integrării nutriției în sănătatea umană

#### Calitatea dietei și prevenirea bolilor

Cohortele prospective robuste și studiile randomizate leagă tiparele alimentare orientate către plante, bogate în fibre, de un risc cardiometabolic mai scăzut. O analiză sistematică și meta-analiză cuprinzătoare din Lancet a constatat că aporturile mai mari de fibre alimentare au fost asociate cu reduceri relative de 15–30% ale mortalității din toate cauzele și cardiovasculare și ale incidenței diabetului de tip 2; beneficiile au



crescut până la aproximativ 25–29 g/zi de fibre (Reynolds et al, 2019). În paralel, studiul randomizat PREDIMED reanalizat în 2018 a arătat că o dietă mediteraneană îmbogățită cu ulei de măsline extravirgin sau nuci a redus evenimentele cardiovasculare majore față de o dietă de control cu conținut mai scăzut de grăsimi (Estruch et al, 2018). Aceste date susțin prioritizarea alimentelor minim procesate de origine vegetală, bogate în fibre și polifenoli, ca fundament sustenabil și de mare valoare pentru promovarea sănătății.

#### Valorificarea compușilor bioactivi din plante și a biodisponibilității

Plantele furnizează vitamine, minerale, fibre și mii de compuși bioactivi (de exemplu, polifenoli, carotenoizi, glucozinolați). Valoarea lor pentru sănătate depinde nu doar de conținut, ci și de biodisponibilitate, cât de bine sunt eliberați compușii, absorbiți și ajung la ținte. Strategiile simple bazate pe alimente pot îmbunătăți semnificativ absorbția. De exemplu, adăugarea alimentelor bogate în vitamina C la mese cu fier vegetal (non-hem) crește absorbția fierului, așa cum s-a demonstrat în studii clasice de bilanț la om (Hallberg et al, 1989). Astfel de sinergii ilustrează modul în care optimizarea combinațiilor și preparărilor alimentare poate amplifica beneficiile substanțelor active derivate din plante.

#### Suplimentele alimentare: roluri, limite și reglementare

Suplimentele alimentare (vitamine, minerale, botanice, probiotice și altele) pot ajuta la corectarea deficiențelor specifice, documentate, sau la acoperirea unor nevoi crescute în anumite etape ale vieții, dar nu înlocuiesc o dietă de înaltă calitate (U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture, 2020). Cadrele de reglementare diferă: în Statele Unite, Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA, 1994) clasifică suplimentele ca o categorie de alimente; producătorii sunt responsabili de siguranță și etichetare, iar produsele intră în general pe piață fără aprobare prealabilă de la FDA (U.S. Congress, 1994). În Uniunea Europeană, Directiva 2002/46/EC armonizează regulile pentru suplimentele alimentare, inclusiv vitaminele și mineralele permise și cerințele de etichetare (European Parliament and Council, 2002). În același timp, investigațiile post-punere pe piață au identificat în mod repetat falsificarea unor suplimente cu produse farmaceutice nedecarate, subliniind



necesitatea vigilenței și a utilizării produselor verificate de la producători de încredere (Tucker et al, 2018).

Când suplimentele sunt în mod clar benefice

Acid folic 400  $\mu\text{g}/\text{zi}$  pentru toate persoanele care ar putea rămâne însărcinate, începând înainte de concepție și până în primul trimestru, reduce defectele de tub neural și este puternic recomandat de autoritățile de sănătate (U.S. Preventive Services Task Force, 2023). Aportul suficient de iod este esențial pentru funcția tiroidiană și dezvoltarea neurocognitivă; fierul și vitamina B12 necesită utilizare țintită atunci când există deficit sau malabsorbție, ghidată de evaluarea clinică.

Situații în care „mai mult” nu este mai bine

Pentru prevenția primară la adulții în general sănătoși, studii randomizate de mari dimensiuni arată că nu există o reducere globală a evenimentelor cardiovasculare majore sau a cancerului cu suplimentarea de rutină cu vitamina D (Manson et al, 2019). Deciziile privind suplimentele ar trebui individualizate, integrând deficitul măsurat, contextul clinic și considerațiile risc–beneficiu, nu doar afirmațiile de pe etichetă.

Priorități practice și sustenabile

1. Alimente înainte de suplimente: Vizați cel puțin 25–30 g/zi de fibre alimentare din cereale integrale, leguminoase, legume, fructe, nuci și semințe; acest nivel este în linie cu reducerile de risc observate în meta-analiza Lancet (Reynolds et al, 2019).
2. Tipare alimentare orientate către plante: Puneți accent pe mese de tip mediteranean, bogate în ulei de măsline extravirgin, nuci, leguminoase, cereale integrale și produse vegetale din abundență, așa cum este susținut de PREDIMED (Estruch et al, 2018).
3. Suplimentare țintită: Utilizați suplimente bazate pe dovezi pentru nevoi definite, cu atenție deosebită pentru acidul folic periconcepțional (U.S. Preventive Services Task Force, 2023).





4. Atenție la afirmații: Fiți precauți cu produsele care promit tratamentul bolilor sau schimbări rapide ale compoziției corporale; falsificarea a fost documentată în categoriile de slăbit, potență sexuală și bodybuilding (Tucker et al, 2018).
5. Politici și sisteme: Dubla povară a malnutriției cere medii alimentare și politici care fac alimentele bogate în nutrienți accesibile și la prețuri abordabile (Global Nutrition Report, 2020).

#### 4.2 Fundamentele alimentației sănătoase

Valorificarea optimă a resurselor vegetale—prin selecția atentă a speciilor, conservarea compușilor bioactivi și utilizarea unor forme eficiente de preparare și aport—stă la baza unui tipar alimentar care susține sănătatea pe termen lung. Accentul pe alimente de origine vegetală minim procesate, bogate în fibre, polifenoli, carotenoizi și grăsimi nesaturate aliniaza alegerile individuale cu ghidajul populațional și obiectivele de sustenabilitate (WHO, 2020; Lichtenstein et al., 2021).



Figura 4.2 Farfurie echilibrată orientată către plante: Elemente-cheie ale nutriției sănătoase, ilustrând alimente bogate în nutrienți, minim procesate, grăsimi de calitate și ținte alimentare bazate pe dovezi



## Nutrienți esențiali și rolurile lor

O dietă sănătoasă furnizează șase grupuri fundamentale de nutrienți—proteine, carbohidrați, grăsimi, vitamine, minerale și apă—fiecare având funcții fiziologice distincte în menținerea țesuturilor, metabolismul energetic, structura celulară, echilibrul hidro-electrolitic și reglarea enzimatică. Calitatea în cadrul acestor grupuri contează: carbohidrații complecși și fibra alimentară susțin controlul glicemic și sănătatea cardiometabolică; înlocuirea grăsimilor saturate cu grăsimi nesaturate îmbunătățește profilurile lipidice; iar aportul adecvat de micronutrienți susține funcția imună, neuromusculară și scheletală (WHO, 2020; Hooper et al., 2020; Reynolds et al., 2019).

## Principii ale unui tipar echilibrat, orientat către plante

Echilibrul alimentar pune accent pe varietate, densitate nutrițională și aport energetic adaptat necesarului, limitând în același timp alimentele puternic procesate. Ținte larg susținute includ consumul a cel puțin 400 g/zi de fructe și legume, menținerea zaharurilor libere sub 10% din energia totală și prioritizarea calității grăsimilor prin limitarea grăsimilor saturate și eliminarea grăsimilor trans industriale în favoarea uleiurilor nesaturate. Înlocuirea cerealelor rafinate cu cereale integrale și diversificarea surselor de proteine cu leguminoase, nuci, semințe și pește îmbunătățește suplimentar calitatea globală a dietei (WHO, 2020; Aune et al., 2016; Lichtenstein et al., 2021).

## Densitatea nutrițională și calitatea fibrei

Alimentele cu densitate mare de nutrienți oferă mai multe vitamine, minerale și compuși bioactivi per calorie. Aporturi mai ridicate de fibre alimentare din cereale integrale, leguminoase, fructe și legume sunt asociate cu o scădere de 15–30% a mortalității din toate cauzele și cu o incidență redusă a bolilor coronariene, accidentului vascular cerebral, diabetului de tip 2 și cancerului colorectal în cohortele prospective; studiile randomizate arată o greutate corporală mai mică, tensiune arterială sistolică mai scăzută și colesterol total mai mic la aporturi mai ridicate de fibre. Ținte pragmatice de cel puțin 25–29 g/zi sunt susținute de dovezi agregate și conferă beneficii suplimentare pentru funcția intestinală și inflamație (Reynolds et al., 2019).



## Calitatea grăsimilor și riscul cardiometabolic

Trecerea de la grăsimi saturate la grăsimi polinesaturate reduce riscul cardiovascular. Accentul pe alimente vegetale bogate în uleiuri (nuci, semințe, ulei de măsline și alte uleiuri vegetale) și pește, în timp ce se limitează alimentele cu conținut ridicat de acizi grași saturați și se elimină grăsimile trans industriale, îmbunătățește LDL-colesterolul și rezultatele clinice ulterioare, în concordanță cu ghidurile globale și ale societăților de specialitate pentru prevenție (Hooper et al., 2020; Lichtenstein et al., 2021).

## Tipare alimentare cu date de rezultat clinic

Tiparele bazate pe alimente care operaționalizează aceste principii demonstrează beneficii la nivel de evenimente clinice. Într-un mare studiu spaniol de prevenție primară, o dietă mediteraneană suplimentată cu ulei de măsline extravirgin sau nuci a redus evenimentele cardiovasculare majore comparativ cu o dietă de control, subliniind valoarea tiparelor alimentare axate pe calitate dincolo de simpla numărare a macronutrienților (Estruch et al., 2018; Lichtenstein et al., 2021).

## Considerații pentru prevenirea cancerului

Sintezele autoritative recomandă menținerea unei greutate corporale sănătoase; accentul pe cereale integrale, legume, fructe și leguminoase; limitarea alimentelor ultra-procesate, a cărnii roșii și procesate și a alcoolului; și evitarea excesului de sodiu și zaharuri libere pentru a reduce riscul mai multor tipuri de cancer. Aceste strategii se aliniază cu ghidajul cardiometabolic, ilustrând beneficii transversale ale unui tipar minim procesat, orientat către plante (WCRF/AICR, 2018).

## Procesarea alimentelor și contextul de consum

Dincolo de totalurile de nutrienți, nivelul de procesare și matricea alimentară influențează apetitul și aportul energetic. Într-un studiu crossover strict controlat, dietele ultra-procesate consumate ad libitum au dus la un aport energetic mai mare și la creștere în greutate în decurs de două săptămâni, comparativ cu dietele minim procesate potrivite pentru kaloriile oferite, macronutrienți, zahăr, sodiu și fibre, sugerând că textura, palatabilitatea și viteza de alimentație pot conduce la supraalimentare pasivă (Hall et al., 2019).



Implementare, echitate și perspective pe parcursul vieții

Adopția depinde de accesibilitate și acces, abilități culinare, preferințe culturale și mediul alimentar. Pașii practici și scalabili includ construirea meselor în jurul legumelor, cerealelor integrale și leguminoaselor; alegerea nucilor și semințelor nesărate pentru gustări; utilizarea uleiurilor bogate în grăsimi nesaturate; planificarea consumului săptămânal de pește; și rezervarea cerealelor rafinate, dulciurilor și cărnii procesate pentru consum ocazional. Măsurile de sănătate publică ce îmbunătățesc accesul la alimente sănătoase și temperează marketingul și disponibilitatea produselor ultra-procesate sunt centrale pentru reducerea disparităților de echitate în nutriție pe parcursul vieții (WHO, 2020; Lichtenstein et al., 2021).

#### **4.3 Suplimente alimentare: reglementare, siguranță și evaluare științifică**

Suplimentele alimentare, numite și suplimente dietetice, sunt surse concentrate de nutrienți sau alte substanțe bioactive destinate să completeze dieta obișnuită atunci când aportul habitual este insuficient. Utilizarea lor s-a extins la nivel mondial, susținută de interesul consumatorilor pentru prevenția în sănătate și de creșterea gamei de produse ce conțin vitamine, minerale, extracte botanice, probiotice, acizi grași omega-3 și alte compuși. În pofida disponibilității largi, întrebările privind calitatea, siguranța și eficacitatea clinică rămân centrale pentru evaluarea științifică și supravegherea reglementară (NIH ODS, 2023).



Figura 4.3 Rezumat vizual al elementelor-cheie în reglementarea, siguranța și evaluarea științifică a suplimentelor alimentare

### Cadru de reglementare

În Statele Unite, suplimentele dietetice sunt reglementate ca o categorie de alimente în temeiul Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA, 1994). Producătorii sunt responsabili de asigurarea siguranței și a etichetării corecte înainte de comercializare; Food and Drug Administration (FDA) acționează, de regulă, post-punere pe piață pentru a aborda produsele falsificate sau etichetate incorect și revizuieste notificările pentru „ingrediente dietetice noi” cu date justificative de siguranță cu cel puțin 75 de zile înainte de comercializare (FDA, 2023). Unitățile trebuie să respecte cerințele de Current Good Manufacturing Practice din 21 CFR Partea 111, care guvernează testarea identității, puritatea, potența, compoziția și păstrarea evidențelor, dar aceste reguli nu constituie o aprobare pre-market, iar abaterile de conformitate pot conduce în continuare la calitate variabilă (FDA, 2007; FDA, 2023). Alte jurisdicții reglementează suplimentele ca alimente cu reguli specifice de compoziție și etichetare și, de obicei, restricționează indicațiile de boală la cele autorizate prin evaluări ale dovezilor; afirmațiile de tip structură/funcție nu trebuie să inducă în eroare și necesită o declinare conform căreia produsul nu este destinat să diagnosticheze, trateze, vindece sau prevină vreo boală (FDA, 2023).



## Considerații de siguranță

Majoritatea suplimentelor sunt bine tolerate atunci când sunt utilizate conform indicațiilor, însă mai multe domenii de risc necesită atenție. Defecte de calitate—precum substituirea, contaminarea sau potența variabilă—au fost documentate, în special la unele produse botanice; studii cu codificare de bare ADN au identificat cazuri de adulterare sau utilizare de agenți de umplere care nu ar fi evidente pentru consumatori (Newmaster et al., 2013). Aportul excesiv peste nivelurile superioare tolerate poate produce toxicitate; de exemplu, doze mari de vitamina E în studiul SELECT au fost asociate cu un risc crescut de cancer de prostată la bărbați (Klein et al., 2011). Interacțiunile farmacocinetice și farmacodinamice sunt bine descrise: sunătoarea induce CYP3A4 și P-glicoproteina, reducând expunerea la multe medicamente; vitamina K antagonizează warfarina; calciul, fierul și magneziul pot reduce absorbția anumitor antibiotice și a hormonului tiroidian. Populațiile speciale—including persoane gravide sau care alăptează, copii, vârstnici cu polimedicație și pacienți cu boală renală sau hepatică—necesită o evaluare individualizată a riscului (NIH ODS, 2023). Siguranța post-market se bazează pe raportarea evenimentelor adverse de către firme și clinicieni către sistemele FDA, cu măsuri de aplicare atunci când sunt identificate riscuri serioase (FDA, 2023).

## Evaluarea științifică a eficacității

Afirmațiile pentru suplimente variază de la corectarea deficiențelor definite până la susținerea sănătății generale sau reducerea riscului de boală. Evaluarea solidă urmează principii utilizate în alte domenii ale științei clinice: plauzibilitate biologică, caracterizarea și standardizarea produsului, farmacocinetică și biodisponibilitate, studii clinice randomizate (RCT) cu endpoint-uri dure și sinteze sistematice ale dovezilor. RCT-uri mari ilustrează nevoia de întrebări precise și rezultate adecvate. În studiul VITAL, vitamina D3 (2000 UI/zi) și acizii grași omega-3 marini (1 g/zi EPA+DHA) nu au redus compozitul primar de cancer invaziv plus evenimente cardiovasculare majore la adulți în general sănătoși, deși analize secundare au sugerat scăderi modeste ale infarctului miocardic pentru omega-3 și ale mortalității prin cancer după excluderea perioadei inițiale de urmărire, subliniind nuanța interpretării pe subgrupuri și endpoint-uri (Manson et al., 2019). În schimb, dovezile agregate susțin anumite utilizări:





probioticele reduc riscul de diaree asociată antibioticelor în numeroase contexte, deși efectele depind de tulpină, doză și populație (Goldenberg et al., 2017). Aceste exemple arată de ce dovezile specifice produsului, standardizarea și raportarea transparentă sunt esențiale pentru a transforma promisiunea mecanistică în recomandări clinice fiabile.

### Asigurarea calității și alegerea informată

Deoarece conformitatea legală nu garantează performanța produsului, programele independente de calitate pot ajuta la reducerea incertitudinii. Verificarea de către terți (de exemplu, însemnul United States Pharmacopeia Verified) evaluează practicile de fabricație, identitatea și potența ingredientelor, contaminanții specificați și acuratețea etichetei, oferind un nivel suplimentar de asigurare pentru clinicieni și consumatori în selecția produselor pentru pacienți cu risc sau pentru uz în cercetare (USP, 2021). Buna practică în îngrijirea clinică este să se prioritizeze strategiile „food-first”; să se confirme o indicație specifică pentru suplimentare (deficiență documentată, necesar fiziologic crescut, aport limitat, malabsorbție sau utilizare terapeutică bazată pe dovezi); să se revizuiască interacțiunile medicament–supliment; să se selecteze produse verificate cu doze adecvate care respectă nivelurile superioare tolerate; și să se monitorizeze rezultatele și efectele adverse (NIH ODS, 2023; FDA, 2023).

Priorități de politică și cercetare Consolidarea supravegherii pre- și post-market, îmbunătățirea transparenței notificărilor pentru ingrediente dietetice noi, extinderea supravegherii analitice pentru adulterați și facilitarea studiilor pragmatice ale produselor bine caracterizate ar reduce lacunele de dovezi. Pentru produsele botanice, extracte standardizate cu chemotipuri definite și atenție la potențiatorii de biodisponibilitate sunt necesare pentru a asigura reproductibilitatea între studii. Pentru produsele orientate către microbiom, etichetarea la nivel de tulpină, viabilitatea garantată pe durata de valabilitate și RCT-uri specifice endpoint-urilor vor îmbunătăți interpretabilitatea (Goldenberg et al., 2017). Alinierea între autorități de reglementare, certificatori terți, clinicieni, cercetători și industrie poate avansa o piață în care suplimentele sigure, de înaltă calitate și bazate pe dovezi completează—nu înlocuiesc—diete nutrițional adecvate (FDA, 2023; NIH ODS, 2023).



#### 4.4 Abordări inovatoare în educația nutrițională

Abordarea provocărilor globale ale malnutriției și ale tiparelor alimentare nesănătoase necesită modele educaționale care să depășească transmiterea didactică, orientându-se către abordări informate de teorie, participative și adaptabile la contexte culturale și socioeconomice diverse. Programele contemporane combină tot mai mult știința schimbării comportamentului, învățarea practică, parteneriatul comunitar și instrumentele digitale pentru a îmbunătăți calitatea dietei și a susține schimbarea în timp (Michie et al., 2011; Bandura, 2004).

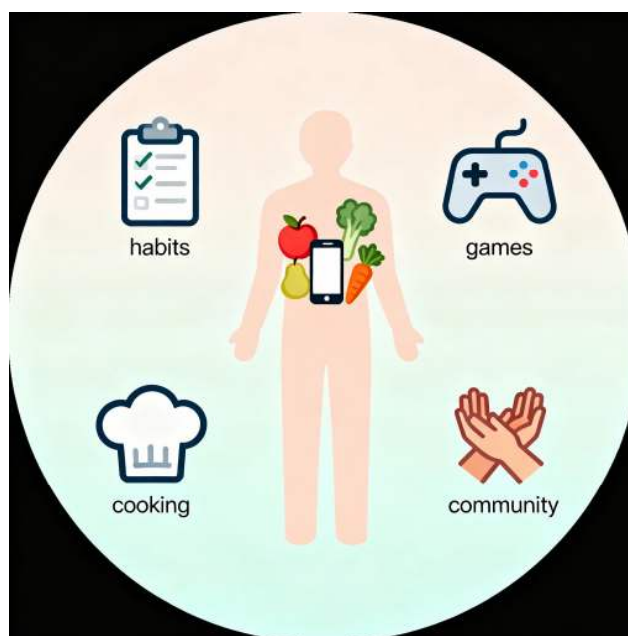


Figura 4.4 Elemente de bază ale educației nutriționale moderne: obiceiuri, jocuri, gătit și comunitate

#### Design informat de teorie și tehnici de schimbare a comportamentului

Educația nutrițională eficientă este ancorată în cadre consacrate de schimbare a comportamentului care identifică ceea ce trebuie să se modifice pentru obiceiuri mai sănătoase—capacitate, oportunitate și motivație—și apoi aliniază tehnicile (stabilirea de obiective, auto-monitorizare, feedback, rezolvarea problemelor) la aceste ținte (Michie et al., 2011). Teoria social-cognitivă accentuează suplimentar auto-eficacitatea, învățarea prin observare și așteptările privind rezultate; intervențiile care dezvoltă abilități (de ex., citirea etichetelor, planificarea meselor), oferă modele



credibile și consolidează reușitele tind să producă efecte mai puternice și mai durabile (Bandura, 2004). Practic, acest lucru se traduce în curricule care ordonează cunoașterea împreună cu practica (de ex., sesiuni de cumpărături și gătit) și includ solicitări pentru reflecție, planificare și sprijin social.

#### Gamificare și instrumente interactive

Jocurile serioase și provocările gamificate pot face tangibile și intrinsec motivante conceptele nutriționale complexe, în special pentru copii, adolescenți și tineri. Punctele, nivelurile, feedback-ul și misiunile narrative transformă citirea etichetelor, estimarea porțiilor și compunerea meselor în învățare experiențială. Dovezile meta-analitice indică faptul că jocurile digitale pentru comportamente de sănătate pot îmbunătăți cunoștințele nutriționale și aporturile auto-raportate, mai ales când sunt fundamentate în teoria comportamentală și combinate cu sarcini practice din lumea reală (de ex., foto-jurnal alimentar, misiuni de gătit) (DeSmet et al., 2014). Pentru a maximiza impactul, designerii ar trebui să specifice comportamentele țintite (de ex., ≥5 porții/zi fructe și legume), să conecteze mecanicile la acele comportamente (de ex., puncte pentru porții verificate) și să furnizeze feedback oportun, personalizat.

#### Învățare practică și experiențială

Formarea în abilități culinare, grădinile școlare, sesiunile de degustare și atelierelor bazate pe simțuri traduc recomandările în capacitate. Programele care predau mise-en-place, abilități de folosire a cuțitului, bugetare și tehnici de economisire a timpului reduc barierele practice pentru prepararea meselor acasă și sunt asociate cu gătit mai frecvent, aport mai mare de fructe și legume și o calitate îmbunătățită a dietei la adulți și familii (Reicks et al., 2014). Abordările de educație senzorială (de ex., explorarea ghidată a gustului, texturii, aromei) ajută copiii să accepte o varietate mai largă de alimente și pot crește disponibilitatea de a încerca legume și leguminoase nefamiliare (Reverdy et al., 2008). Integrarea acestor activități în contexte de rutină—săli de clasă, centre comunitare, asistență primară—sprijină acoperirea și menținerea.

#### Abordări centrate pe comunitate și sensibile cultural

Educația nutrițională condusă de comunitate valorifică liderii locali, tradițiile alimentare și rețelele sociale pentru a asigura relevanța și echitatea. Co-designul cu participanții,



inclusiunea alimentelor preferate culturale și livrarea condusă de egali pot întări încrederea și adoptarea, abordând concomitent barierele structurale (accesibilitate, acces, timp) prin strategii complementare precum vouchere pentru produse proaspete, piețe mobile sau schimbări implicite „alegeri sănătoase” în cantine. Textele de referință subliniază că adaptarea conținutului și a livrării la normele comunității, nivelurile de alfabetizare și mediile alimentare este centrală pentru eficacitate și sustenabilitate (Contento, 2016).

#### Învățare augmentată tehnologic și sprijin just-in-time

Aplicațiile mobile, consilierea prin mesaje text și modulele web extind învățarea dincolo de sala de curs, oferă indicii în timp real și permit auto-monitorizarea (de ex., jurnale alimentare bazate pe fotografii, obiective progresive). Recenziile sistematice la tineri adulți arată că programele eHealth bine proiectate pot îmbunătăți comportamentele dietetice, în special când încorporează tehnici de schimbare a comportamentului (planificare a acțiunilor, notificări, feedback) și caracteristici interactive mai degrabă decât conținut static (Hutchesson et al., 2015). Pentru profesioniștii din sănătate, platformele de e-learning susțin formarea scalabilă în consiliere, interviu motivațional și ghiduri dietetice, performând cel puțin la fel de bine ca formatele tradiționale, în timp ce îmbunătățesc flexibilitatea și acoperirea (Vaona et al., 2018). Programele ar trebui să abordeze echitatea digitală (acces la dispozitive, costuri de date) și să protejeze confidențialitatea.

#### Implementare, evaluare și echitate

Implementarea riguroasă încheie decalajul dintre eficacitate și impactul din lumea reală. Practici-cheie includ: (i) monitorizarea fidelității componentelor de bază (de ex., numărul și calitatea sesiunilor de gătit), (ii) evaluare mixtă care combină indici ai calității dietei (de ex., porții de fructe/legume, aport de cereale integrale, alimente discreționare) cu mediatori comportamentali (auto-eficacitate, „food agency”) și (iii) atenție la acoperire și reprezentativitate pe grupe de vârstă, gen, venit și cultură. Costul și fezabilitatea ar trebui urmărite alături de rezultate pentru a informa extinderea. Cadrul schimbării comportamentului încurajează adaptarea iterativă pe baza



feedback-ului local, păstrând ingredientele active identificate a priori (Michie et al., 2011; Contento, 2016).

Integrarea componentelor: un model integrat

Cele mai promițătoare programe combină componente: un curriculum scurt, fundamentat teoretic, pentru a construi „de ce” și „cum”, suporturi gamificate și mobile pentru a susține motivația, gătit practic și explorare senzorială pentru a construi capacitatea și parteneriate comunitare pentru a aborda oportunitatea (accesibilitate și acces). Când aceste straturi sunt aliniate, studiile raportează îmbunătățiri semnificative ale cunoștințelor, ale alegerilor alimentare și ale auto-eficacității, cu semnale timpurii pentru o calitate mai bună a dietei și rezultate legate de greutate în timp (DeSmet et al., 2014; Reicks et al., 2014; Hutchesson et al., 2015; Vaona et al., 2018; Contento, 2016; Reverdy et al., 2008).

#### **4.5 Evaluarea nivelului de conștientizare nutrițională**

Evaluarea conștientizării nutriționale este esențială pentru a determina dacă educația nutrițională schimbă cu adevărat ceea ce oamenii știu, cred și fac. O evaluare robustă clarifică ce mesaje sunt înțelese, unde persistă concepțiile greșite și cum se leagă cunoașterea de alegerile dietetice și de sănătate. O evaluare eficientă îmbină chestionare solide psihometric cu indicatori complementari comportamentali și biologici și valorifică din ce în ce mai mult tehnologiile digitale pentru a surprinde învățarea și deciziile din lumea reală.

Motivație și constructe de bază

Conștientizarea nutrițională cuprinde cunoaștere factuală (de ex., surse alimentare de nutrienți, recomandări dietetice), cunoaștere procedurală (de ex., interpretarea etichetelor, planificarea meselor echilibrate) și cunoaștere condițională (când și de ce să se aplice abilitățile). Deoarece cunoașterea este doar unul dintre factorii care determină comportamentul, evaluările de înaltă calitate iau în considerare, de asemenea, atitudinile, auto-eficacitatea și constrângerile de mediu și testează dacă o



conștientizare mai mare corelează cu tipare de aport mai sănătoase și cu biomarkeri (Spronk et al., 2014).

#### Chestionare standardizate

General Nutrition Knowledge Questionnaire (GNKQ) este unul dintre cele mai utilizate instrumente, acoperind recomandări dietetice, alegeri alimentare, surse de nutrienți și legături dietă–boală; a demonstrat fiabilitate și validitate de construct și a fost adaptat intercultural (Parmenter and Wardle, 1999). Versiunea revizuită GNKQ-R a actualizat conținutul itemilor pentru a reflecta ghidurile dietetice contemporane, a îmbunătățit lizibilitatea și a rafinat subscalele pentru adulți în contexte diverse (Kliemann et al., 2016). Alte instrumente validate vizează populații sau domenii specifice (de ex., sportivi, îngrijitori), iar dezvoltarea sistematică include de obicei generarea de itemi din ghiduri, revizuire de experți, interviuri cognitive, testare pilot și evaluare psihometrică (Hendrie et al., 2008; Trakman et al., 2017).

#### Calitate psihometrică și măsurare modernă

Dincolo de consistența internă și fiabilitatea test–retest, studiile contemporane aplică teoria răspunsului la item (item response theory) și analiza Rasch pentru a optimiza dificultatea și discriminarea itemilor, a detecta funcționarea diferențiată a itemilor între limbi sau demografii și a permite testarea adaptivă pe computer care scurtează chestionarele fără a sacrifica precizia (Trakman et al., 2017). Testarea invarianței de măsurare asigură că diferențele de scor observate reflectă lacune reale de cunoaștere, nu artefacte de traducere sau culturale (Hendrie et al., 2008).

#### Sondaje KAP cuprinzătoare

Cadrul Cunoștințe, Atitudini și Practici (KAP) extinde dincolo de cunoașterea factuală pentru a surprinde credințele, barierele percepute și comportamentele auto-raportate. Ghidajul standardizat al Organizației pentru Alimentație și Agricultură oferă șabloane pentru eșantionare, proiectarea chestionarelor, pilotare și analiză pentru a spori comparabilitatea între programe și țări (FAO, 2014). Sondajele KAP sunt deosebit de utile pentru intervențiile bazate pe comunitate, unde normele culturale și mediile alimentare modelează puternic alegerile.





## Legarea cunoașterii de comportament și sănătate

Pentru a valida că „a ști mai mult” se traduce în „a face mai bine”, evaluările asociază scorurile de cunoaștere cu rezultate obiective: reamintiri de 24 de ore, chestionare de frecvență alimentară sau jurnale alimentare digitale pentru aport; antropometrie (IMC, circumferința taliei); și biomarkeri precum lipidele, glucoza sau statusul micronutrienților. Dovezile meta-analitice arată asocieri modeste dar consistente între o cunoaștere nutrițională mai mare și tipare dietetice mai sănătoase—aport mai mare de fructe și legume, aport mai mic de grăsimi saturate și o calitate globală mai bună a dietei (Spronk et al., 2014). Aceste legături întăresc inferența cauzală când sunt măsurate longitudinal și ajustate pentru factori sociodemografici.

## Evaluare augmentată tehnologic

Platformele mobile și web pot livra chestionare scurte, sarcini de citire a etichetelor și provocări just-in-time, surprinzând acuratețea răspunsului și latența ca indicatori suplimentari ai stăpânirii. Aplicațiile facilitează, de asemenea, evaluarea ecologică momentară a alegerilor alimentare și pot integra scanări de coduri de bare sau jurnale bazate pe fotografii; recenziile sistematice raportează că instrumentele digitale bine proiectate pot îmbunătăți cunoașterea dietei și comportamentele aferente, mai ales când feedback-ul și stabilirea de obiective sunt încorporate (Chen et al., 2017). Analiticele digitale (de ex., performanța la nivel de item, rate de finalizare) sprijină iterația rapidă a conținutului educațional.

## Echitate, cultură și context

Conștientizarea nutrițională este modelată de vârstă, educație, venit, alfabetizare alimentară și tradiții culinare culturale. Evaluările ar trebui să includă itemi în limbaj simplu, materiale vizuale și exemple specifice contextului (de ex., alimente de bază, porții uzuale) și să documenteze acoperirea și performanța pe subgrupuri pentru a detecta decalaje de echitate (Hendrie et al., 2008; FAO, 2014). Traducerea/retro-traducerea și interviurile cognitive reduc interpretarea greșită, în timp ce testele de funcționare diferențiată a itemilor ajută la asigurarea unei scorări echitabile între limbi și culturi (Trakman et al., 2017).



## Asigurarea calității și raportare

Studiile solide preînregistrează protocoalele; raportează fiabilitatea, validitatea și invarianța de măsurare; justifică regulile de scorare și pragurile; și dezvăluie limitări precum dezirabilitatea socială, ghicitul și biasul de selecție. Când este fezabil, designurile mixte adaugă profunzime explicativă explorând de ce anumite concepții greșite persistă în ciuda instruirii (Hendrie et al., 2008).

Integrarea componentelor O strategie multi-metod—chestionare validate (GNKQ/GNKQ-R sau instrumente specifice populației), module KAP, repere obiective pentru dietă și biomarkeri și performanță la sarcini asistate de tehnologie—oferă o viziune cuprinzătoare asupra conștientizării nutriționale și a consecințelor sale. Astfel de designuri permit programelor să rafineze mesajele, să adapteze suporturile pentru subgrupuri și să demonstreze legături semnificative de la învățare la alimentație mai sănătoasă și la markeri clinici îmbunătățiți (Parmenter and Wardle, 1999; Kliemann et al., 2016; Spronk et al., 2014; FAO, 2014; Hendrie et al., 2008; Trakman et al., 2017; Chen et al., 2017).

## 4.6 Eficacitatea intervențiilor nutriționale inovatoare

Eficacitatea intervențiilor nutriționale inovatoare a fost examinată în diverse populații și contexte de livrare, arătând că programele bine concepute pot îmbunătăți cunoștințele, pot schimba alegerile alimentare și pot produce câștiguri clinice măsurabile—deși efectele variază în funcție de context, intensitate și durata urmăririi. Mai jos, dovezile sunt sintetizate pe abordări majore, cu atenție la mecanisme, considerații de implementare și lacune care limitează generalizabilitatea.

### Intervenții îmbunătățite tehnologic

Instrumentele de sănătate digitale (aplicații mobile, portaluri, telemedicină) și formatele bazate pe jocuri pot crește implicarea și scurta buclele de feedback între comportament și întărire. O meta-analiză a jocurilor de societate pentru sănătate a raportat un efect cumulat mare asupra cunoștințelor legate de sănătate și efecte mici spre moderate asupra comportamentelor și indicatorilor biologici, sugerând că jocul



structurat poate transforma învățarea în acțiune atunci când jocurile încorporează obiective clare și feedback (Gauthier, 2019). Demersuri mai ample de tip scoping și meta-analize privind intervențiile asistate de tehnologie indică faptul că platformele interactive sunt constant eficiente pentru rezultatele legate de greutate, dar arată efecte heterogene asupra calității dietei, adesea din cauza ferestrelor de intervenție scurte, a capetelor de măsurare dietetice nestandardizate și a personalizării limitate (Chew et al., 2023). Caracteristici ale programului care întăresc impactul includ stabilirea adaptivă a obiectivelor, notificări just-in-time și integrarea cu consiliere umană; în schimb, sarcina mare pentru utilizator și oboseala la notificări subminează aderența și diluează efectele în timp (Chew et al., 2023).

#### Intervenții țintite și pe parcursul vieții

Intervențiile aliniate la ferestre critice (preconcepție, sarcină, copilărie timpurie, adolescență) demonstrează randamente disproporționat de mari comparativ cu programele din etapele ulterioare ale vieții. Suplimentarea echilibrată energie–proteină în timpul sarcinii reduce greutatea mică la naștere și îmbunătățește rezultatele la naștere, subliniind valoarea combinării educației nutriționale cu o strategie concretă de supliment adecvată contextului (Lassi et al., 2021). Ecosistemele digitale care selectează resurse bazate pe dovezi pentru părinți și profesioniști pot scala astfel de abordări; evaluările timpurii ale platformelor integrate raportează fezabilitate puternică și implicare a utilizatorilor, pregătind scena pentru studii cu putere adecvată pe rezultate de creștere și alimentație (Øverby et al., 2023). La adolescenți, modelele multicomponente de „food literacy” care combină ateliere, sarcini experiențiale și elemente digitale îmbunătățesc cunoștințele nutriționale, reduc alimentația emoțională și întăresc auto-reglarea—mecanisme care, în mod plauzibil, susțin alegeri mai sănătoase sub stres și influență a grupului de egali (Mancone et al., 2024).

#### Managementul bolilor cronice

În rândul adulților cu afecțiuni cronice legate de dietă, consilierea dietetică și monitorizarea livrate digital produc îmbunătățiri modeste, dar clinic semnificative, în aderența la dieta mediteraneană, aportul de fructe și legume, reducerea sodiului, antropometrie și control glicemic—efecte consistente cu auto-monitorizarea iterativă și



responsabilitatea la distanță (Barnett et al., 2023). Aceste constatări susțin integrarea modulelor nutriționale în căile de management al bolilor, subliniind totodată nevoia de urmăriri mai lungi și analize de cost-eficiență pentru a informa decontarea (Barnett et al., 2023).

### Strategii comunitare și de schimbare a comportamentului social

Programele de comunicare pentru schimbarea socială și a comportamentului în nutriție (NSBCC) care operează prin structuri comunitare—folosind mesaje repetate, multi-canal, cu demonstrații practice—au demonstrat creșteri ale alăptării exclusive și îmbunătățiri ale indicatorilor de creștere a copilului. Mărimile efectelor sunt cele mai mari acolo unde comunicarea este asociată cu facilitatori (de ex., acces la alimente, sprijin care economisește timp), evidențiind că numai cunoașterea este insuficientă în contexte cu resurse limitate (Mahumud et al., 2022).

### Mecanisme de acțiune și factori modificatori ai efectului

De-a lungul modalităților, reapar câțiva factori motori: (1) saliență și repetare (nudges, remindere), (2) auto-eficacitate și abilități (citirea etichetelor, bugetare, pregătirea mesei), (3) întărire socială (egali, familii, lideri comunitari) și (4) sprijin structural (opțiuni implicite sănătoase, acces). „Doza” intervenției, adaptarea la contexte culturale și de alfabetizare și nivelul de alfabetizare nutrițională de bază modulează consecvent rezultatele (Chew et al., 2023; Mancone et al., 2024). Programele care asociază educația cu resurse tangibile (subvenții, suplimente sau cutii cu alimente) arată efecte mai mari și mai durabile (Lassi et al., 2021).

### Implementare, echitate și sustenabilitate

Eficacitatea depinde de fidelitate (livrare conform intenției), acoperire (cine participă) și menținere (continuarea post-studiu). Diviziunile digitale, barierele lingvistice și variabilitatea mediilor alimentare pot lărgi inechitățile dacă nu sunt abordate proactiv prin opțiuni offline, conținut multilingv și legături cu sprijin social (Chew et al., 2023; Mahumud et al., 2022). Pentru scalabilitate, designurile hibride care combină funcții automatizate cu sprijin uman de intensitate redusă par cele mai eficiente din punct de vedere al costurilor, păstrând în același timp aderența (Barnett et al., 2023). Monitorizarea de rutină ar trebui să includă indicatori stratificați pe echitate și date de



proces centrate pe utilizator (timp de implicare, receptivitate la remindere) pentru a ghida corecțiile pe parcurs (Øverby et al., 2023).

#### Măsurare și rezultate

Câștigurile pe termen scurt în cunoștințe sunt frecvente, dar schimbarea dietetică susținută necesită urmăriri mai lungi și capete de măsurare armonizate (de ex., indici standardizați ai calității dietei, date obiective de achiziție sau aport). Acolo unde este fezabil, asocierea auto-raportării cu biomarkeri sau măsuri din dispozitive conectate îmbunătățește validitatea. Efectele de menținere sunt cele mai puternice atunci când sunt în vigoare „doze de rapel” post-intervenție și suporturi de mediu (Gauthier, 2019; Barnett et al., 2023).

#### Sinteză generală

Intervențiile nutriționale inovatoare—în special cele interactive, personalizate și asociate cu facilitatori structurali—pot îmbunătăți cunoștințele și pot produce schimbări comportamentale și clinice semnificative. Cele mai solide dovezi susțin țintirea pe parcursul vieții, livrarea mixtă uman-digitală și modelele SBCC ancorate în comunitate. Munca viitoare ar trebui să prioritizeze studii mai lungi cu designuri sensibile la echitate, analize de cost-eficiență și interoperabilitate cu sistemele de sănătate și sociale pentru a susține impactul la scară (Chew et al., 2023; Barnett et al., 2023; Mahumud et al., 2022; Lassi et al., 2021; Øverby et al., 2023; Mancone et al., 2024; Gauthier, 2019).

## 4.7 Bibliografie

Global Nutrition Report. Global Nutrition Report 2020: Action on equity to end malnutrition. Bristol (UK): Development Initiatives; 2020.

U.S. Department of Health and Human Services; U.S. Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans, 2020–2025. 9th ed. Washington (DC): U.S. Government Printing Office; 2020.



Reynolds A, Mann J, Cummings J, Winter N, Mete E, Te Morenga L. Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet*. 2019;393(10170):434-445.

Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *N Engl J Med*. 2018;378(25):e34.

Hallberg L, Brune M, Rossander L. The role of vitamin C in iron absorption. *Am J Clin Nutr*. 1989;49(1):140-144.

U.S. Congress. Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA). Public Law 103-417; 1994.

European Parliament and Council. Directive 2002/46/EC on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements. *Off J Eur Communities*. 2002;L183:51-57.

Tucker J, Fischer T, Upjohn L, Mazzer D, Kumar M. Unapproved pharmaceutical ingredients included in dietary supplements associated with FDA warnings. *JAMA Netw Open*. 2018;1(6):e183337.

U.S. Preventive Services Task Force. Folic acid supplementation to prevent neural tube defects: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *JAMA*. 2023;330(5):471-477.

Manson JE, Cook NR, Lee IM, et al. Vitamin D supplements and prevention of cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2019;380(1):33-44.

World Health Organization. Healthy diet. Geneva: WHO; 2020.

Hooper L, Martin N, Jimoh OF, Kirk C, Foster E, Abdelhamid AS. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;5:CD011737.

Lichtenstein AH, Appel LJ, Vadiveloo M, et al. 2021 Dietary Guidance to Improve Cardiovascular Health. *Circulation*. 2021;144(23):e472-e487.

World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, nutrition, physical activity and cancer: a global perspective. Continuous Update Project Expert Report. London: WCRF/AICR; 2018.





Aune D, Keum N, Giovannucci E, et al. Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and mortality: systematic review and dose-response meta-analysis. *BMJ*. 2016;353:i2716.

Hall KD, Ayuketah A, Brychta R, et al. Ultra-processed diets cause excess calorie intake and weight gain: an inpatient randomized controlled trial. *Cell Metab*. 2019;30(1):67-77.e3.

U.S. Food and Drug Administration. Dietary supplements: overview of regulatory requirements and responsibilities. Silver Spring (MD): FDA; 2023.

U.S. Food and Drug Administration. Current Good Manufacturing Practice (CGMP) in manufacturing, packaging, labeling, or holding operations for dietary supplements: final rule. *Fed Regist*. 2007;72(121):34752-34958.

Newmaster SG, Grguric M, Shanmughanandhan D, Ramalingam S, Ragupathy S. DNA barcoding detects contamination and substitution in North American herbal products. *BMC Med*. 2013;11:222.

Klein EA, Thompson IM Jr, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*. 2011;306(14):1549-1556.

Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen WG, Bassuk SS, Mora S, et al. Marine n-3 fatty acids and prevention of cardiovascular disease and cancer. *N Engl J Med*. 2019;380(1):23-32.

Goldenberg JZ, Lytvyn L, Steurich J, Parkin P, Mahant S, Johnston BC. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*–associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;12:CD006095.

United States Pharmacopeia (USP). USP Verified Mark—Dietary Supplements: program overview. Rockville (MD): USP; 2021.

National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Dietary supplements: what you need to know. Bethesda (MD): NIH ODS; 2023.

Michie S, van Stralen MM, West R. The behaviour change wheel: A new method for characterising and designing behaviour change interventions. *Implement Sci*. 2011;6:42.

Bandura A. Health promotion by social cognitive means. *Health Educ Behav*. 2004;31(2):143-164.



DeSmet A, Van Ryckeghem D, Compennolle S, et al. A systematic review and meta-analysis of serious digital games for healthy lifestyle promotion. *Prev Med*. 2014;69:95-107.

Reicks M, Trofholz AC, Stang JS, Laska MN. Impact of cooking and home food preparation interventions among adults: a systematic review. *J Nutr Educ Behav*. 2014;46(2):105-117.

Reverdy C, Schlich P, Köster EP, Ginon E, Lange C. Effect of sensory education on willingness to taste novel food in children. *Food Qual Prefer*. 2008;19(5):580-590.

Contento IR. *Nutrition Education: Linking Research, Theory, and Practice*. 3rd ed. Burlington (MA): Jones & Bartlett; 2016.

Hutchesson MJ, Rollo ME, Krukowski R, et al. eHealth interventions for the prevention and treatment of overweight and obesity in adults: a systematic review with meta-analysis. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2015;12:35.

Vaona A, Banzi R, Kwag KH, et al. E-learning for health professionals. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;1:CD011736.

Parmenter K, Wardle J. Development of a general nutrition knowledge questionnaire for adults in the UK. *Appetite*. 1999;33(3):295-306.

Kliemann N, Wardle J, Johnson F, Croker H. Reliability and validity of a revised version of the General Nutrition Knowledge Questionnaire (GNKQ-R). *Appetite*. 2016;99:66-74.

Spronk I, Kullen C, Burdon C, O'Connor H. Relationship between nutrition knowledge and dietary intake. *Nutr Diet*. 2014;71(3):313-330.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Guidelines for assessing nutrition-related knowledge, attitudes and practices (KAP)*. Rome: FAO; 2014.

Hendrie GA, Cox DN, Coveney J. Derivation of a diet quality index for an Australian population. *Appetite*. 2008;50(1):189-197.

Trakman GL, Forsyth A, Devlin BL, Belski R. Development and validation of a brief general nutrition knowledge questionnaire for athletes. *J Int Soc Sports Nutr*. 2017;14:18.

Chen J, Lieffers J, Bauman A, Hanning R, Allman-Farinelli M. The use of smartphone health apps and other mobile health technologies in dietetic practice: a three-country study of dietitians. *J Hum Nutr Diet*. 2017;30(4):439-452.



Gauthier A, Kato PM, Bul KCM, Dunwell I, Walker-Clarke A, Lamerar P. Board games for health: a systematic literature review and meta-analysis. *Games Health J.* 2019;8(2):85-100.

Chew HSJ, Rajasegaran NN, Chng S. Effectiveness of interactive health-assistive technology interventions to improve healthy food choice: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2023;130(7):1250-1259.

Lassi ZS, Padhani ZA, Rabbani A, Rind F, Salam RA, Das JK, Bhutta ZA. Balanced energy-protein supplementation during pregnancy and birth outcomes: systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2021;13(2):E438.

Øverby NC, Hillesund ER, Helland SH, Medin AC, Sagedal LR, Bere E, et al. Evaluating the effectiveness and implementation of an integrated digital ecosystem for early-life nutrition: study protocol for a hybrid type 1 randomised controlled effectiveness-implementation trial (the Nutrition Now project). *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;13:1071489.

Mancone S, et al. Enhancing nutritional knowledge and self-regulation among adolescents: efficacy of a multifaceted food literacy intervention. [Final journal details to be added when available].

Barnett A, Wright CJ, Watson L, Wilson A, Weng S, Zhang J, et al. Dietary education delivered by digital health for improving diet quality and health outcomes in adults with diet-related chronic diseases: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2022;14(14):2872.

Mahumud MS, Rawal LB, Hossain G, Hossain MN, Hossain MR, Gow J. Social and behaviour change communication interventions and infant and young child feeding practices: a systematic review and meta-analysis. *Matern Child Nutr.* 2022;18(S1):e13264.

ISBN 978-606-786-500-4



**SPU**  
Slovenská  
poľnohospodárska  
univerzita v Nitre

