

**“VICTOR BABEȘ” UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY FROM
TIMISOARA**

FACULTY OF MEDICINE

Department XIV MICROBIOLOGY

VULCĂNESCU DAN-DUMITRU



PHD THESIS

**THE IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON BACTERIAL
TRENDS IN HOSPITALS IN WESTERN ROMANIA**

A B S T R A C T

Scientific Coordinator:

PROF. UNIV. DR. HABIL. HORHAT FLORIN GEORGE

Timișoara

2025

ABSTRACT

INTRODUCTION

The COVID-19 pandemic has had far-reaching effects beyond virology, significantly disrupting antimicrobial resistance (AMR) dynamics and hospital-acquired infections (HAIs), particularly in health systems already under strain, such as Romania's. With pre-existing challenges in infection control and high rates of multidrug-resistant organisms, the Romanian healthcare system faced intensified pressure due to increased ICU admissions, overuse of broad-spectrum antibiotics, and reduced diagnostic capacity during the pandemic.

Focusing on Western Romania, this thesis explores how bacterial resistance patterns evolved across three distinct timeframes—pre-pandemic, pandemic, and post-pandemic. It analyzes original hospital data, especially from pediatric patients, and situates findings within national and European contexts. The work aims not only to chart microbial trends but also to reveal how systemic issues like poor surveillance infrastructure and weakened antibiotic stewardship shaped these outcomes. By synthesizing regional microbiological data with literature insights, the study offers a multidimensional perspective on AMR trends during COVID-19. Ultimately, it advocates for better preparedness, enhanced surveillance, and policy reform to strengthen healthcare resilience in Romania and similar systems across post-pandemic Europe.

GENERAL PART

Hospital-acquired infections (HAIs) are infections acquired during medical care, typically manifesting after 48 hours of admission. They pose serious global health threats, increasing morbidity, mortality, and healthcare costs—especially in settings with limited infection control. HAIs are categorized by site (e.g., respiratory, urinary, surgical, bloodstream) and by pathogen type. Resistance phenotypes such as multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (XDR), or even pan-drug-resistant (PDR) reflect the growing challenge of AMR, with specific threats including methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase negative Staphylococci (MRCoNS), and Enterococci (VRE), extended spectrum beta-lactamase (ESBL) or carbapenem resistant organisms (CRO).

Globally, 7–15% of hospitalized patients acquire HAIs, with the EU reporting over 4 million cases annually. In Romania, underreporting is suspected due to limited surveillance. The COVID-19 pandemic intensified these risks: increased ICU demand, disrupted infection control, and excessive antibiotic use contributed to higher rates of secondary infections and AMR. Pathogens like *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, and *Candida* spp. became more prominent in critically ill patients. Overall, the pandemic highlighted the need for stronger infection prevention, antimicrobial stewardship, and more reliable surveillance systems to mitigate the long-term impact of AMR in healthcare.

Hospital environments act as complex microbial ecosystems that promote the persistence and evolution of various pathogens, particularly bacteria, influenced by factors such as antimicrobial pressure, immunosuppression, and invasive medical procedures. One

key survival strategy of these organisms is biofilm formation, which enhances resistance to antibiotics and host defenses, making many HAIs difficult to treat.

Among Gram-positive cocci, *S. aureus*, especially MRSA, remains a leading cause of surgical site and bloodstream infections. Coagulase-negative staphylococci (CoNS), though less virulent, are major contributors to catheter-related infections, particularly due to their resistance and biofilm capacity. Enterococci, especially VRE strains, present additional challenges in urinary and intra-abdominal infections. Gram-negative bacilli are equally problematic; *E. coli* and *K. pneumoniae* frequently produce ESBLs and carbapenemases, limiting treatment options.

Non-fermenting organisms like *P. aeruginosa* and *A. baumannii* are notorious for multidrug resistance and environmental resilience, often affecting ICU patients. Other emerging pathogens, such as *M. morganii*, *S. marcescens*, and *S. maltophilia*, are increasingly involved in nosocomial infections, particularly in vulnerable populations. Lastly, *Clostridioides difficile* remains a major cause of antibiotic-associated diarrhea, especially in the context of antimicrobial overuse during the COVID-19 pandemic. Its spore-forming ability and toxin production make it highly transmissible and difficult to eradicate. Collectively, these organisms highlight the complexity and severity of HAIs and reinforce the need for vigilant surveillance, infection prevention, and antimicrobial stewardship.

Antimicrobials work by targeting essential cellular functions such as cell wall synthesis, protein synthesis, and DNA replication. Bacteria evade these drugs through several key mechanisms: (1) enzymatic inactivation, including beta-lactamase production that breaks down penicillins and cephalosporins; (2) target modification, where structural changes in drug-binding sites reduce antibiotic effectiveness (e.g., MRSA, VRE); (3) efflux pumps that expel antibiotics from the bacterial cell; and (4) reduced permeability via changes in porin proteins that limit drug entry, especially in Gram-negative bacteria like *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. Resistance is also driven by horizontal gene transfer, allowing bacteria to acquire resistance genes from other organisms through conjugation, transformation, or phage-mediated transduction. These processes enable rapid spread of resistance phenotypes within and between species.

Infection Prevention and Control (IPC) is a fundamental strategy for preventing the spread of HAIs, especially in hospitals where vulnerable patients are exposed to multidrug-resistant pathogens. IPC combines standard practices—such as hand hygiene, protective equipment, and environmental cleaning—with targeted precautions based on how specific infections spread (contact, droplet, or airborne). International guidelines from WHO, CDC, and ECDC emphasize these practices, along with surveillance systems that track infection trends and guide responses to outbreaks. However, in Romania and other Eastern European countries, challenges like underreporting and limited resources weaken IPC implementation. Strengthening IPC requires better infrastructure, trained personnel, and regulatory enforcement to reduce HAIs and combat antimicrobial resistance.

The COVID-19 pandemic profoundly affected healthcare systems, exacerbating existing vulnerabilities such as AMR and HAIs, particularly in hospitals. In Romania, already burdened by structural limitations and underreported HAIs, the pandemic intensified these issues. Hospitals faced resource shortages, increased patient volumes, and weakened infection control, creating favorable conditions for the spread of multidrug-resistant organisms.

SARS-CoV-2, the virus behind COVID-19, enters human cells via ACE2 receptors using its spike protein. The resulting illness ranges from mild symptoms to severe respiratory distress and organ failure. High-risk groups include the elderly and those with chronic diseases—trends also observed in Romanian hospitals. The virus spreads primarily through respiratory droplets and aerosols, especially in enclosed spaces. Diagnostic tools included RT-PCR (gold standard), rapid antigen tests, and serological assays, with newer molecular techniques like CRISPR and LAMP emerging during the pandemic. In Romania, testing delays and inconsistent access to diagnostics were notable barriers, especially early on.

Healthcare systems were forced to rapidly restructure: hospitals repurposed clinical spaces, redirected staff, and expanded ICU capacity to manage surges in critically ill COVID-19 patients. In Romania, these changes were compounded by longstanding systemic limitations, including underfunding, staff shortages, and weak laboratory capacity. IPC priorities were redirected toward managing SARS-CoV-2, often at the expense of routine surveillance and antimicrobial stewardship.

The pandemic revealed and intensified vulnerabilities in infection control systems. Routine surveillance for HAIs and MDR pathogens was suspended or scaled back as microbiological labs were redirected toward COVID-19 diagnostics. Simultaneously, the heavy use of broad-spectrum antibiotics—frequently administered empirically in COVID-19 cases—fueled resistance development. Many COVID-19 patients received antibiotics despite low rates of confirmed bacterial co-infections, with azithromycin and ceftriaxone among the most commonly prescribed. In Romania, where antibiotic use was already high, these trends became more pronounced, often occurring without microbiological confirmation or proper de-escalation protocols.

As a result, nosocomial infections, particularly in ICUs, rose during COVID-19 waves. Opportunistic and MDR pathogens like carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, and *Candida auris* were increasingly isolated, especially in settings with high mechanical ventilation rates and prolonged hospital stays. Romanian hospitals, such as those in Timișoara and Cluj-Napoca, mirrored global trends, with spikes in resistant *Enterobacterales* and inconsistently monitored increases in MRSA and VRE.

During the COVID-19 pandemic, hospitals became high-risk environments for secondary bacterial and fungal infections. SARS-CoV-2 not only directly impacted patients but also weakened infection control practices, increased the use of invasive procedures, and led to widespread empirical antibiotic use—all of which contributed to the rise of highly resistant infections. Critically ill patients, especially those in ICUs, were highly susceptible to these co- and superinfections, with pathogens like *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii* becoming more prevalent.

The virus also impaired immune defenses by reducing lymphocyte counts and triggering cytokine storms, which damaged mucosal barriers and made patients more vulnerable to opportunistic infections. The use of immunosuppressive treatments, like corticosteroids and IL-6 inhibitors, further increased this risk. Fungal infections, particularly *Candida* and in some regions mucormycosis, also rose sharply. Moreover, the compromised immune state of many patients and the breakdown in routine microbiological surveillance allowed MDR organisms to spread more easily. These trends were especially severe in health systems already under strain, such as Romania's, where testing and diagnostic delays exacerbated the challenge.

Surveillance requires more than passive reporting; it needs trained staff, real-time data systems, and coordinated policies—all of which are often lacking in resource-poor areas. Additionally, socioeconomic factors like income, education, and health-seeking behaviors affect how infections spread and how quickly patients receive appropriate treatment. Hospitals in lower-income areas often lack second-line drugs, rapid diagnostics, and staff capacity, which worsens AMR and leads to poorer outcomes.

SPECIAL PART

Romania's COVID-19 experience revealed critical healthcare vulnerabilities, particularly in IPC and AMR surveillance. Between 2020 and 2022, the pandemic strained hospitals, leading to a surge in MDR infections—especially among ICU patients. Pathogens like *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii* became increasingly resistant, with some carbapenem resistance rates exceeding 60%.

Broad-spectrum antibiotics were widely used, often without bacterial confirmation, contributing to local outbreaks of resistant organisms such as *Candida auris*. Simultaneously, routine surveillance and infection control protocols were disrupted, leading to underreporting and delayed detection of hospital-acquired infections. Although surveillance systems began recovering post-2022, the microbial landscape remains altered.

Addressing these issues requires investment in diagnostics, automated reporting, and IPC training. In order to better understand the situation in our country, this doctoral thesis sought to explore multifactorial impact of the COVID-19 pandemic on microbial ecology, antimicrobial resistance, and hospital-associated infection dynamics in Romania, with a particular focus on healthcare institutions in the western region. The research integrates a critical literature review with microbiological data analysis in order to assess how pandemic-related disruptions altered microorganism prevalence and resistance patterns

The objectives of this work were: (1): To conduct a comprehensive literature review on HAIs and AMR trends in Romania; (2): To analyze and compare prepandemic, pandemic and postpandemic trends in regards to microbial infections in Western Romania; (3): To analyze and compare prepandemic, pandemic and postpandemic trends in regards to AMR patterns in Western Romania; (4): To identify and interpret other potential determinants, such as socioeconomic factors, with a focus on pediatric abandonment in healthcare units.

1ST STUDY: BACTERIAL INFECTIONS, TRENDS, AND RESISTANCE PATTERNS IN THE TIME OF THE COVID-19 PANDEMIC IN ROMANIA—A SYSTEMATIC REVIEW

By evaluating the patterns of antimicrobial use and resistance during the COVID-19 pandemic, the study reveals how Romania's healthcare system—already strained by structural deficits—faced a surge in MDR infections exacerbated by pandemic-related disruptions such as prolonged ICU stays, delayed diagnostics, and empirical antibiotic prescribing.

The findings underscore the compounding nature of the crisis: while COVID-19 was the immediate concern, the pandemic accelerated underlying microbial challenges. Resistant

pathogens, particularly carbapenemase-producing *K. pneumoniae*, MDR *A. baumannii*, and ESBL-producing *E. coli*, became increasingly prevalent, often affecting the most vulnerable populations—elderly patients, immunocompromised individuals, and those requiring invasive care.

By mapping these trends against Romania's epidemiological landscape, the review exposes significant inconsistencies in surveillance, laboratory capacity, and regional resource allocation. The lack of real-time reporting and diagnostic delays impeded timely responses to outbreaks, allowing resistant strains to propagate. Furthermore, the review highlights the absence of large-scale, national studies on AMR trends during the pandemic, emphasizing the urgent need for standardized, integrated data systems that align with international monitoring efforts like EARS-Net and GLASS.

This systematic review adhered to PRISMA guidelines and was registered in the PROSPERO database to ensure methodological rigor. Searches across major databases (PubMed, Scopus, MEDLINE, Cochrane) targeted studies on bacterial infections and antimicrobial resistance in Romania during the COVID-19 pandemic (2020–2022). After duplicate removal and screening, eligible studies were evaluated using standardized tools, and data on demographics, clinical features, and resistance profiles were extracted. Study quality was assessed using NHLBI checklists, allowing for a transparent classification of methodological reliability. The review process identified 2740 articles, of which 577 were unique after duplicate removal. Following title, abstract, and full-text screening, 87 studies were included—comprising mainly original research, with a few case reports and one case series. Most studies were rated as fair quality, with 25% classified as high quality. This dataset forms the analytical core of the thesis and reflects a targeted effort to synthesize bacterial and AMR data from Romania during the pandemic period.

Among the 87 included studies, a majority (over 80%) reported patient-level data, accounting for more than 21,000 individuals, of whom around two-thirds had microbiologically confirmed bacterial infections. An additional subset focused on infection episodes or combined metrics, capturing nearly 18,000 separate samples. Time coverage varied: while 44% of studies focused exclusively on the pandemic period (2020–2022), others included pre- or post-pandemic intervals, though 39% failed to specify POI sample sizes clearly. Demographic reporting was heterogeneous; pooled patient age averaged 57.94 years, while sex distribution, reported in 70% of studies, showed a near-even male-to-female ratio with a slight skew toward female participants when sex-exclusive studies were included. Geographically, the West region and Bucharest were most represented, contributing 24% and 23% of studies, respectively, while the South region had no representation at all—highlighting significant geographic disparities in Romanian research output. Hospitalization duration was reported in nearly half of studies, with a pooled mean stay of 18 days and a median of 12 days. ICU-related data showed nearly 10,400 ICU admissions, 54% of which occurred during the pandemic period, though only a fraction were attributed to confirmed bacterial infections. Mortality data revealed a 13.56% death rate across studies, with over 22% of these deaths occurring during the pandemic years, and 5% directly linked to bacterial infections, further emphasizing the compounded risks faced by hospitalized COVID-19 patients.

Across the 87 included studies, the origin of bacterial isolates was documented in over 93% of cases, although only 56% provided such data specifically for the pandemic period

(2020–2022). Approximately one-quarter of studies described isolates from multiple wards, with infectious diseases, pneumophthiology, and ICU departments being the most frequently cited sources of bacterial samples during both the entire study period and the pandemic interval. The sample origins were diverse, with urinary specimens being the most common, followed closely by blood cultures, wound exudates, stool samples, and respiratory tract specimens, reflecting the clinical diversity of infection sources during COVID-19 hospitalizations.

Diagnostic methods varied significantly across studies, with classical culture techniques, Vitek 2, and MALDI-TOF being the most frequently employed. Overall, 39,823 bacterial strains were identified, of which 12,060 (30.68%) were specifically from the pandemic period. Gram-positive cocci—particularly *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (CoNS)—dominated that group, while among Gram-negatives, *E. coli* and *Klebsiella* spp. were most prevalent. Notably, opportunistic pathogens such as *P. aeruginosa* and *A. baumannii* maintained a strong presence during the pandemic, underscoring their association with hospital-acquired infections and COVID-19 patient vulnerability.

Antimicrobial susceptibility testing (AST) methods were detailed in nearly half of the reviewed studies, with only a quarter specifying their approach during the pandemic years (2020–2022). Automated systems such as Vitek 2, BD Phoenix, and Sensititre were frequently employed, although a portion of studies lacked clarity on both testing methods and interpretive standards. Among those that did specify protocols, CLSI and EUCAST guidelines were used almost equally, highlighting variation in methodological alignment across Romanian laboratories. This lack of uniformity, especially in resistance reporting during the pandemic, presents challenges for cross-study comparability and raises concerns about data transparency.

Resistance trends across antibiotic classes showed significant fluctuation between pre-, intra-, and post-pandemic phases. Penicillins like ampicillin and amoxicillin saw increased reporting post-pandemic, while third-generation cephalosporins, carbapenems, and fluoroquinolones like ciprofloxacin were heavily reported during the pandemic due to their broad-spectrum utility. Aminoglycosides remained stable, with gentamicin and amikacin consistently used, and polymyxins, particularly colistin, gained attention in ICU settings. Resistance phenotype data, though inconsistently stratified by ward or clinical context, identified considerable burdens of MDR, XDR, and PDR organisms—especially among *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., and *S. aureus*.

Specifically, *Klebsiella* spp. emerged as a dominant source of multidrug resistance, contributing over 2,200 MDR strains and dozens of XDR and carbapenem-resistant isolates. Other high-burden organisms included *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii*, which showed alarming resistance levels in pandemic-focused studies. Gram-positive pathogens also displayed notable resistance: MRSA accounted for nearly all *S. aureus* MDR strains, while MRCoNS and VRE were prevalent among *S. epidermidis* and *Enterococcus* spp., respectively. These trends emphasize the extensive and varied AMR landscape across Romanian hospitals, particularly under pandemic-induced antimicrobial pressures.

2ND AND 3RD STUDY: THE IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON PEDIATRIC MICROBIAL INFECTIONS TRENDS, RESISTANCE PATTERNS, AND ABANDONMENT RATES IN WESTERN ROMANIA – AN INTERDISCIPLINARY STUDY

The systematic review, based on 87 Romanian studies, offered a comprehensive evaluation of bacterial infections and AMR during the COVID-19 pandemic, highlighting alarmingly high rates of MDR, XDR, and PDR phenotypes—particularly in *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., and *Acinetobacter* spp. These resistance trends were especially pronounced in ICU and infectious disease wards, and often accompanied by high rates of MRSA, VRE, and ESBL-producing organisms. A major limitation identified in the review was the severe underrepresentation of pediatric populations, with only 2 studies (2.30%) focusing on children, despite growing evidence of their vulnerability in later pandemic waves. Pediatric care was heavily disrupted by delayed treatments, postponed vaccinations, and restricted healthcare access—particularly affecting rural, institutionalized, and low-income populations. The overuse of broad-spectrum antibiotics in these settings raised additional concerns about accelerating AMR among children. In response, the second part of the thesis pivots to explore pediatric-specific infection trends, with a dual focus on microbial patterns and structural healthcare deficiencies.

An important social dimension of the study addresses the issue of pediatric hospital abandonment in Romania. Already among the highest in Europe pre-pandemic, child abandonment was likely exacerbated by lockdowns, economic hardship, and restricted hospital access—contributing to a potential underreporting of new cases. By combining microbial surveillance with the socio-clinical issue of abandonment, the research aims to inform more equitable and targeted pediatric health policies in Romania. This part of the study aimed to comprehensively examine pediatric microbial infections and AMR trends in a tertiary children's hospital in Western Romania across three critical timeframes: before, during, and after the COVID-19 pandemic. It focused on analyzing the distribution of pathogens, the burden of infections, and variations in hospitalization outcomes across different wards and demographics. In addition, the research explored the phenomenon of pediatric hospital abandonment, assessing its correlation with infection severity and length of stay, and how it may have worsened during the pandemic.

This retrospective observational study was carried out at the “Louis Țurcanu” Children’s Emergency Hospital in Timișoara, Romania, and spanned three epidemiological phases: pre-pandemic (2019), pandemic (2021), and post-pandemic (2023). It aimed to assess pediatric microbial infections, antimicrobial resistance (AMR) trends, and hospital abandonment rates. Patient inclusion required confirmed microbial infection and complete demographic data, while microbial identification followed standard hospital protocols, including culture, Vitek 2 Compact, and MALDI-TOF systems. AST primarily used disk diffusion, interpreted via CLSI guidelines in 2019 and 2021, and EUCAST in 2023, with resistance categorized using the MDR, XDR, and PDR framework. The study evaluated a wide spectrum of antibiotics and antifungals and defined hospital abandonment as a delay in discharge due to the absence of a legal guardian. Statistical analyses were performed using MedCalc and G*Power software, with appropriate non-parametric and categorical tests. Incidence rate ratios (IRRs) compared infection and abandonment rates between the three years, while logistic regression was used to explore predictors of abandonment.

A total of 3,530 pediatric patients and 6,885 microbiological samples were analyzed across three time points—2019, 2021, and 2023. The lowest patient and sample counts were recorded during the pandemic year (2021), with statistically significant increases observed both pre- and post-pandemic, highlighting a suppressed diagnostic volume during COVID-19. Urban children comprised the majority (53.71%) of the cohort, though rural representation increased in 2023, and infants consistently represented the largest age group, especially in 2021. While there was a slight male predominance (51.25%), sex and median age distributions remained statistically consistent across the years.

During the study period, ward-specific trends highlighted significant shifts in pediatric care delivery during the COVID-19 pandemic. The Outpatient Department, while managing the largest overall patient volume (23.34%), experienced a noticeable decline in admissions during the pandemic (from 26.25% in 2019 to 20.52% in 2021), with only a modest recovery in 2023. Conversely, ICU and Surgery Department admissions increased sharply during 2021, suggesting a rise in infection severity and complexity, but both showed notable declines post-pandemic. Similarly, Dialysis services peaked in 2021, likely due to COVID-19-related complications, before declining again. Other wards such as Neonatology and Cardiology showed a gradual increase in cases through 2023, while Emergency and Pneumology departments recorded pandemic-era surges that stabilized afterward. ENT services, however, saw reduced utilization throughout, likely influenced by changes in infection prevention policies. Length of hospital stay (LoS) data further supports the impact of the pandemic on care complexity. Median LoS was significantly longer during the pandemic year (5 days in 2021) compared to the pre- (3 days in 2019) and post-pandemic periods (2 days in 2023), with the ICU/NICU subgroup also showing a peak in LoS during 2021 (10 days) before a slight decline.

Urine samples were the most commonly collected across all study years (28.85%), maintaining stable collection rates. In contrast, nasal and pharyngeal secretions saw significant reductions during the pandemic, likely due to shifts in diagnostic focus and reduced respiratory testing for non-COVID conditions, before partially rebounding in 2023. Wound secretions, catheter samples, and hypopharyngeal aspirates increased during the pandemic—suggesting more severe or device-related infections—before declining again post-pandemic. Blood and conjunctival secretion sampling rose steadily from 2019 to 2023, while less frequently collected samples like peritoneal and pleural fluids declined after the pandemic onset, reflecting evolving clinical priorities and diagnostic patterns in pediatric care.

Across all samples analyzed, *E. coli* was the most frequently isolated pathogen, followed by *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, and Group A Streptococcus. Pathogen distribution varied by clinical setting: *E. coli* dominated in general wards, *P. aeruginosa* and *C. albicans* were most prevalent in ICUs, and *S. aureus* was predominant in outpatient and emergency departments. Several pathogens exhibited significant temporal fluctuations: *S. aureus*, non-albicans *Candida* spp., and *Serratia* spp. declined post-pandemic, while *S. pneumoniae* rebounded partially after an initial drop. Notably, Group A Streptococcus dropped sharply during the pandemic but surged post-2021, suggesting changes in transmission dynamics or diagnostic priorities.

Pandemic-specific peaks were seen for *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *C. albicans*, and *Enterobacter* spp., especially in ICU settings, while CoNS and non-faecalis/faecium

Enterococcus spp. became more common post-pandemic. Outpatient settings experienced a significant increase in *S. aureus* and a dramatic rebound in Group A *Streptococcus* by 2023. Meanwhile, ICU data showed *S. maltophilia* and *E. faecium* rising, while *C. parapsilosis*, *S. paucimobilis*, and certain *Klebsiella* and *Enterococcus* strains declined or fluctuated. The evolving microbial landscape reflected both changes in infection control practices and broader pandemic-induced shifts in healthcare delivery and diagnostics.

AST across the three timeframes revealed substantial fluctuations in both the frequency of testing and resistance profiles across various antibiotic and antifungal classes. Fluoroquinolones, aminoglycosides, and penicillins were the most frequently tested, with resistance identified in nearly 70% of all samples. While some classes such as penicillins maintained high resistance rates throughout, others, including cephalosporins, carbapenems, and aminoglycosides, showed notable decreases in resistance during or after the pandemic. Conversely, classes such as fluoroquinolones, urinary antibiotics, and miscellaneous antimicrobials exhibited increasing resistance, particularly post-pandemic. Several antifungals, especially polyenes and azoles, showed a dip in resistance during 2021 but later rebounded to or exceeded pre-pandemic levels.

When stratified by clinical setting, unique resistance trends emerged. Among hospitalized patients (excluding ICUs), resistance to penicillins and reserve antibiotics rose during the pandemic, while classes like cephalosporins and macrolides declined. In outpatient and emergency settings, resistance fell during the pandemic but returned to baseline or higher levels by 2023, with sharp increases in fluoroquinolone resistance. ICU samples showed the highest initial resistance levels, with a dip in 2021 for aminoglycosides and azoles, followed by partial recovery or escalation. Notably, resistance to urinary antibiotics and macrolides rose significantly post-pandemic in ICUs. These shifting patterns reflect pandemic-era changes in antibiotic use and infection control, underscoring the need for targeted antimicrobial stewardship tailored to clinical context and period-specific risk.

The distribution of resistance phenotypes across pediatric microbiological isolates in Western Romania between 2019 and 2023 revealed striking temporal and setting-specific trends, particularly influenced by the COVID-19 pandemic. Methicillin resistance showed a marked rise during the pandemic for both *S. aureus* (MRSA, from 15.28% to 36.08%) and coagulase-negative staphylococci (MRCoNS, from 52.10% to 81.43%), with MRCoNS significantly declining afterwards, while MRSA levels remained elevated. VRE, though observed, did not exhibit significant change across the years. ESBL producers accounted for 19.22% of all isolates, with *E. coli*, *K. pneumoniae*, and *P. aeruginosa* leading in prevalence. ESBL expression declined during and after the pandemic in most organisms, although *K. pneumoniae* bucked this trend by increasing in the post-pandemic period. CRO, predominantly found in *P. aeruginosa*, peaked in 2021 and sharply declined thereafter, except for *K. pneumoniae*, which continued increasing post-pandemic. MDR phenotypes were highly prevalent (68.12%), with a pandemic-year dip followed by a rebound in 2023. Notably, *S. aureus* reached its highest MDR frequency post-pandemic, while *S. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., and *A. baumannii* declined. XDR isolates—7.92% overall—followed a similar trajectory, falling in 2021 and stabilizing afterwards, with *K. pneumoniae* leading these isolates. These resistance dynamics varied by hospital setting: inpatients exhibited stable or increasing MDR rates in *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*, while ICU settings were marked by consistently high resistance, though a notable decline in 2023 was seen across XDR trends. Meanwhile,

non-hospitalized patients showed declining MDR patterns across all key organisms. These findings underscore the impact of pandemic-related clinical practices on resistance evolution, particularly the increased use of broad-spectrum agents and delayed care access, emphasizing the urgent need for robust surveillance and targeted antimicrobial stewardship in Romanian pediatric healthcare.

A secondary objective of the study was to explore the link between pediatric hospital abandonment and microbial infections, revealing a troubling intersection between medical vulnerability and social neglect. While national abandonment cases declined from 683 in 2019 to 295 in 2023, rates in Western Romania and Timiș County rose proportionally, suggesting localized disparities. At the “Louis Țurcanu” Children's Hospital, abandonment rates fluctuated but peaked in 2023 (1.69%), with microbial infections identified in most of these cases in both 2019 and 2023. Notably, *S. maltophilia* was disproportionately prevalent among abandoned children in 2023.

AMR among abandoned patients revealed concerning trends. In 2019, significantly higher resistance to fluoroquinolones, aminoglycosides, and reserve antibiotics was recorded among these children, while in 2023, elevated resistance emerged for cephalosporins and urinary antibiotics. Two logistic regression models examined predictors of abandonment. The first identified prolonged hospitalization, prematurity, and malnutrition as major risk factors. The second showed that resistance to cephalosporins and reserve antibiotics significantly increased abandonment likelihood, likely due to their association with complex, prolonged treatment. These findings emphasize the urgent need to integrate medical and social strategies in pediatric care to prevent abandonment and improve clinical outcomes.

CONCLUSIONS

This doctoral thesis offers a comprehensive evaluation of how the COVID-19 pandemic influenced bacterial infection trends, AMR, and healthcare vulnerabilities in Romania, with a dual focus on the general and pediatric populations. Through a national literature review and detailed clinical data from a tertiary pediatric hospital, the study reveals a concerning post-pandemic resurgence in MDR and XDR phenotypes, especially among *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *Enterobacter* spp. These trends reflect the long-term consequences of empirical antibiotic overuse, disrupted surveillance, and weakened infection control protocols during the health crisis. High resistance rates, particularly in ICUs, and variability in diagnostic and reporting standards further underscore Romania's systemic challenges in managing AMR effectively.

In the pediatric cohort, analyzed over three distinct time points (2019, 2021, and 2023), diagnostic activity, pathogen profiles, and AMR patterns fluctuated in response to pandemic pressures. *E. coli* and *S. aureus* remained prevalent, while resistance to fluoroquinolones and urinary antibiotics rose notably. Although national pediatric abandonment rates declined, regional and institutional cases increased, especially in Timis County, with abandoned children showing higher infection and resistance burdens. Multivariate analysis linked prolonged hospital stay, prematurity, malnutrition, and resistance to cephalosporins and reserve antibiotics to higher abandonment risk. The thesis concludes with a call for national data harmonization, investment in pediatric care, and interdisciplinary strategies that address both

medical and social determinants of health, positioning the COVID-19 crisis as a turning point for Romania's AMR preparedness

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA

FACULTATEA DE MEDICINĂ

Departamentul XIV MICROBIOLOGIE

VULCĂNESCU DAN-DUMITRU



TEZĂ DE DOCTORAT

TITLUL TEZEI DE DOCTORAT

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. HABIL. HORHAT FLORIN GEORGE

Timișoara

2025

REZUMAT

INTRODUCERE

Pandemia de COVID-19 a avut efecte profunde dincolo de domeniul virusologiei, perturbând semnificativ dinamica rezistenței antimicrobiene (AMR) și a infecțiilor nosocomiale (HAIs), în special în sistemele de sănătate deja suprasolicitate, cum este cel al României. Având dificultăți preexistente în controlul infecțiilor și rate ridicate de organisme multirezistente, sistemul sanitar românesc s-a confruntat cu presiuni suplimentare cauzate de creșterea internărilor în secțiile de terapie intensivă, utilizarea excesivă a antibioticelor cu spectru larg și capacitatea diagnostică redusă în timpul pandemiei.

Axa principală a acestei teze o reprezintă analiza modului în care tiparele de rezistență bacteriană au evoluat în regiunea de Vest a României, pe parcursul a trei intervale temporale distincte: pre-pandemie, pandemie și post-pandemie. Studiul valorifică date clinice originale, în special din spitale pediatrice, și le plasează într-un context mai larg, național și european. Obiectivul nu este doar de a urmări tendințele microbiene, ci și de a evidenția modul în care problemele sistemice – cum ar fi infrastructura slabă de supraveghere și gestionarea deficitară a utilizării antibioticelor – au influențat aceste rezultate. Prin sinteza datelor microbiologice regionale cu literatura de specialitate, lucrarea oferă o perspectivă multidimensională asupra evoluției AMR în timpul pandemiei de COVID-19. În final, se subliniază nevoia de o mai bună pregătire, o supraveghere consolidată și reforme de politici pentru a întări reziliența sistemului sanitar românesc și a altor sisteme similare din Europa post-pandemică.

PARTEA GENERALĂ

Infecțiile asociate asistenței medicale (HAIs) sunt infecții dobândite în timpul îngrijirii medicale, care apar de obicei după 48 de ore de la internare. Ele reprezintă o amenințare gravă la adresa sănătății publice la nivel global, crescând morbiditatea, mortalitatea și costurile sistemului sanitar – mai ales în unitățile cu control infecțios deficitar. HAIs sunt clasificate în funcție de localizare (ex. respiratorii, urinare, ale plăgii chirurgicale, ale sângelui) și de tipul agentului patogen. Fenotipurile de rezistență precum cele multirezistente (MDR), cu rezistență extinsă (XDR) sau chiar cu rezistență totală la antibiotice (PDR) reflectă provocările tot mai mari legate de AMR. Printre amenințările specifice se numără *S. aureus* rezistent la meticilină (MRSA), stafilococi coagulazo-negativi (MRCoNS) și enterococi rezistenți la vancomicină (VRE), dar și tulpini producătoare de beta-lactamază cu spectru extins (ESBL) sau rezistente la carbapeneme (CRO).

La nivel global, între 7–15% dintre pacienții internați dobândesc HAIs, iar în Uniunea Europeană se raportează anual peste 4 milioane de cazuri. În România, se suspectează subraportarea din cauza supravegherii limitate. Pandemia de COVID-19 a intensificat aceste riscuri: cererea crescută pentru internări în ATI, perturbarea protocoalelor de control al infecțiilor și utilizarea excesivă a antibioticelor au contribuit la creșterea incidenței infecțiilor

secundare și a AMR. Patogeni precum *K. pneumoniae*, *A. baumannii* și *Candida* spp. au devenit mai prevalenți în rândul pacienților critici. În ansamblu, pandemia a evidențiat necesitatea consolidării măsurilor de prevenire a infecțiilor, a utilizării raționale a antibioticelor și a unor sisteme de supraveghere mai fiabile pentru a reduce impactul pe termen lung al AMR în sistemele de sănătate.

Mediul spitalicesc funcționează ca un ecosistem microbial complex care favorizează persistența și evoluția diverselor microorganisme, în special bacterii, influențate de factori precum presiunea antimicrobiană, imunosupresia și utilizarea procedurilor medicale invazive. Una dintre strategiile esențiale de supraviețuire ale acestor organisme este formarea de biofilm, care sporește rezistența la antibiotice și la mecanismele de apărare ale gazdei, făcând ca multe HAIs să fie dificil de tratat.

Dintre cocii Gram-pozitivi, *S. aureus* – în special tulpinile MRSA – rămâne una dintre principalele cauze ale infecțiilor de plagă chirurgicală și ale infecțiilor de sânge. Stafilococii coagulazo-negativi (CoNS), deși mai puțin virulenți, sunt responsabili pentru un număr semnificativ de infecții asociate cateterelor, datorită rezistenței și capacității de formare a biofilmului. Enterococii, în special tulpinile VRE, reprezintă o provocare în infecțiile urinare și intra-abdominale. Bacilii Gram-negativi sunt la fel de problematici; *E. coli* și *K. pneumoniae* produc frecvent ESBL-uri și carbapenemaze, limitând opțiunile terapeutice disponibile.

Organismele non-fermentative, precum *P. aeruginosa* și *A. baumannii*, sunt notorii pentru rezistența multiplă la antibiotice și reziliența în medii spitalicești, afectând frecvent pacienții din ATI. Alți agenți patogeni emergenți, cum ar fi *M. morganii*, *S. marcescens* și *S. maltophilia*, sunt tot mai des implicați în infecțiile nosocomiale, în special la populațiile vulnerabile. Nu în ultimul rând, *Clostridioides difficile* continuă să fie o cauză majoră a diareei asociate utilizării antibioticelor, în special în contextul utilizării excesive de antimicrobiene în timpul pandemiei de COVID-19. Capacitatea sa de a forma spori și de a produce toxine îl face extrem de contagios și dificil de eliminat. Împreună, acești agenți patogeni evidențiază complexitatea și gravitatea HAIs și susțin necesitatea unor măsuri riguroase de supraveghere, prevenție și gestionare a antimicrobienelor.

Antimicrobienele acționează prin țintirea unor funcții celulare esențiale, precum sinteza peretelui celular, sinteza proteinelor sau replicarea ADN-ului. Bacteriile dezvoltă rezistență la aceste substanțe prin mai multe mecanisme-cheie: (1) inactivare enzimatică, cum ar fi producerea de beta-lactamaze care distrug penicilinele și cefalosporinele; (2) modificarea țintelor, prin care modificările structurale ale locurilor de legare ale antibioticelor reduc eficacitatea acestora (ex. MRSA, VRE); (3) pompe de eflux care expulzează antibioticele din celula bacteriană; și (4) reducerea permeabilității, prin modificări ale proteinelor porină care limitează pătrunderea medicamentelor, în special la bacterii Gram-negative precum *P. aeruginosa* și *K. pneumoniae*. De asemenea, rezistența este propagată prin transferul orizontal de gene, permițând bacteriilor să dobândească gene de rezistență de la alte organisme prin conjugare, transformare sau transducție mediată de bacteriofagi. Aceste procese facilitează răspândirea rapidă a fenotipurilor rezistente în cadrul și între speciile bacteriene.

Prevenirea și Controlul Infecțiilor (IPC) reprezintă o strategie fundamentală pentru limitarea răspândirii HAIs, în special în spitale unde pacienții vulnerabili sunt expuși agenților patogeni multirezistenți. IPC combină practici standard – cum ar fi igiena mâinilor, echipamentul de protecție și curățenia mediului – cu măsuri specifice în funcție de modul de transmitere al infecției (contact, picături respiratorii sau aerosoli). Ghidurile internaționale emise de OMS, CDC și ECDC promovează aceste practici, alături de sisteme de supraveghere care monitorizează tendințele infecțioase și oferă răspunsuri în caz de focare. Totuși, în România și în alte țări din Europa de Est, provocări precum subraportarea și resursele limitate slăbesc aplicarea eficientă a acestor măsuri. Consolidarea IPC necesită infrastructură adecvată, personal instruit și aplicarea riguroasă a reglementărilor pentru a reduce HAIs și a combate rezistența antimicrobiană.

Pandemia de COVID-19 a afectat profund sistemele de sănătate, accentuând vulnerabilitățile preexistente precum rezistența antimicrobiană (AMR) și infecțiile asociate asistenței medicale (HAIs), în special în spitale. În România, unde sistemul de sănătate era deja afectat de limitări structurale și o subraportare a HAIs, pandemia a intensificat aceste probleme. Spitalele s-au confruntat cu lipsuri de resurse, creșteri ale numărului de pacienți și un control al infecțiilor slăbit, ceea ce a creat condiții favorabile pentru răspândirea microorganismelor multirezistente.

SARS-CoV-2, virusul responsabil de COVID-19, pătrunde în celulele umane prin receptorii ACE2 folosindu-și proteina spike. Boala rezultată variază de la simptome ușoare la insuficiență respiratorie severă și afectare multiorganică. Grupurile cu risc crescut includ vârstnicii și persoanele cu afecțiuni cronice — o tendință observată și în spitalele românești. Virusul se transmite în principal prin picături respiratorii și aerosoli, mai ales în spații închise. Instrumentele de diagnostic au inclus RT-PCR (standardul de aur), teste rapide antigen și teste serologice, iar tehnici moleculare mai noi, precum CRISPR și LAMP, au fost dezvoltate în timpul pandemiei. În România, întârzierile la testare și accesul inegal la diagnostice au fost obstacole notabile, mai ales în fazele timpurii ale pandemiei.

Sistemele de sănătate au fost nevoite să se restructureze rapid: spitalele au reconfigurat spațiile clinice, au redistribuit personalul și au extins capacitatea ATI pentru a gestiona valurile de pacienți critici cu COVID-19. În România, aceste schimbări au fost amplificate de limitări sistemice vechi, inclusiv subfinanțare, deficit de personal și capacitate de laborator slabă. Prioritățile legate de prevenirea și controlul infecțiilor (IPC) s-au concentrat pe gestionarea SARS-CoV-2, deseori în detrimentul supravegherii obișnuite și al programelor de gestionare a antibioticelor.

Pandemia a scos la iveală și a intensificat vulnerabilitățile sistemelor de control al infecțiilor. Supravegherea de rutină pentru HAIs și patogenii multirezistenți a fost suspendată sau redusă, deoarece laboratoarele de microbiologie s-au concentrat pe diagnosticul COVID-19. În paralel, utilizarea excesivă a antibioticelor cu spectru larg — adesea administrate empiric în cazurile de COVID-19 — a favorizat dezvoltarea rezistenței. Mulți pacienți cu COVID-19 au primit antibiotice în ciuda unei rate scăzute de coinfecții bacteriene confirmate, azitromicina și ceftriaxona fiind printre cele mai frecvent prescrise. În România, unde consumul

de antibiotice era deja ridicat, aceste tendințe s-au accentuat, adesea fără confirmare microbiologică sau protocoale de dezesescaladare adecvate.

Ca urmare, infecțiile nosocomiale — în special în secțiile ATI — au crescut în timpul valurilor COVID-19. Patogeni oportuniști și multirezistenți precum *K. pneumoniae* rezistentă la carbapeneme, *A. baumannii* și *Candida auris* au fost izolați tot mai frecvent, în special în medii cu rate ridicate de ventilație mecanică și internări prelungite. Spitalele românești, precum cele din Timișoara și Cluj-Napoca, au reflectat tendințele globale, cu creșteri ale *Enterobacterales* rezistente și o monitorizare inconsistentă a MRSA și VRE.

Pe parcursul pandemiei, spitalele au devenit medii cu risc ridicat pentru infecții bacteriene și fungice secundare. SARS-CoV-2 nu doar că a afectat direct pacienții, ci a și slăbit practicile de control al infecțiilor, a crescut utilizarea procedurilor invazive și a dus la o utilizare pe scară largă a antibioticelor empirice — toate contribuind la apariția infecțiilor rezistente. Pacienții critici, în special cei internați în ATI, au fost extrem de vulnerabili la aceste coinfectii și suprainfecții, iar patogeni precum *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii* au devenit tot mai frecvenți.

Virusul a afectat și răspunsul imun prin reducerea numărului de limfocite și declanșarea „furtunilor de citokine”, care au deteriorat barierele mucoase și au făcut pacienții mai vulnerabili la infecții oportuniste. Utilizarea tratamentelor imunosupresoare, precum corticosteroizii și inhibitorii IL-6, a crescut și mai mult acest risc. Infecțiile fungice, în special cele cu *Candida* și, în unele regiuni, mucormicoza, au crescut brusc. Mai mult, starea imună compromisă a multor pacienți și colapsul supravegherii microbiologice de rutină au permis răspândirea ușoară a organismelor multirezistente. Aceste tendințe au fost deosebit de grave în sistemele de sănătate deja suprasolicitate, precum cel al României, unde întârzierile în testare și diagnostic au amplificat provocările existente.

Supravegherea eficientă necesită mai mult decât raportarea pasivă; presupune personal instruit, sisteme de date în timp real și politici coordonate — toate acestea fiind adesea insuficiente în zonele cu resurse reduse. În plus, factori socio-economici precum venitul, educația și comportamentele legate de accesul la servicii medicale influențează modul de răspândire al infecțiilor și rapiditatea cu care pacienții primesc tratamentul adecvat. Spitalele din zonele cu venituri mici se confruntă adesea cu lipsa medicamentelor de linia a doua, a testărilor rapide și a capacității de personal, ceea ce agravează AMR și duce la rezultate mai slabe pentru pacienți.

PARTEA SPECIALĂ

Experiența României în timpul pandemiei de COVID-19 a scos la iveală vulnerabilități critice ale sistemului de sănătate, în special în ceea ce privește prevenirea și controlul infecțiilor (IPC) și supravegherea rezistenței antimicrobiene (AMR). Între 2020 și 2022, pandemia a pus o presiune semnificativă asupra spitalelor, ceea ce a dus la o creștere a infecțiilor cu germeni multirezistenți (MDR), în special în rândul pacienților internați în secțiile de terapie intensivă. Patogeni precum *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii* au

devenit tot mai rezistenți, unele tulpini prezentând rate de rezistență la carbapeneme de peste 60%.

Antibioticele cu spectru larg au fost utilizate pe scară largă, adesea fără confirmare bacteriologică, ceea ce a contribuit la apariția focarelor locale de germeni rezistenți, precum *Candida auris*. În același timp, protocoalele de supraveghere de rutină și de control al infecțiilor au fost întrerupte, ceea ce a dus la subraportarea și detectarea întârziată a infecțiilor asociate asistenței medicale. Deși sistemele de supraveghere au început să se recupereze după 2022, peisajul microbiologic rămâne profund modificat.

Abordarea acestor probleme necesită investiții în capacități de diagnostic, sisteme automate de raportare și programe de formare în IPC. Pentru a înțelege mai bine situația din România, această teză doctorală și-a propus să investigheze impactul multifactorial al pandemiei de COVID-19 asupra ecologiei microbiene, rezistenței antimicrobiene și dinamicii infecțiilor asociate asistenței medicale, cu un accent deosebit pe instituțiile sanitare din regiunea de vest a țării. Cercetarea îmbină o analiză critică a literaturii de specialitate cu analiza datelor microbiologice, în scopul de a evalua modul în care perturbările generate de pandemie au influențat prevalența microorganismelor și modelele de rezistență.

Obiectivele lucrării au fost: (1) Realizarea unei analize cuprinzătoare a literaturii privind HAI și tendințele AMR în România; (2) Analiza și compararea tendințelor pre-pandemice, pandemice și post-pandemice în ceea ce privește infecțiile microbiene în vestul României; (3) Analiza și compararea tendințelor pre-pandemice, pandemice și post-pandemice în privința tiparelor de rezistență antimicrobiană în vestul României; (4) Identificarea și interpretarea altor determinanți potențiali, cum ar fi factorii socio-economici, cu accent pe abandonul pediatric în unitățile sanitare.

PRIMUL STUDIU: INFECȚIILE BACTERIENE, TENDINȚELE ȘI MODELELE DE REZISTENȚĂ ÎN TIMPUL PANDEMIEI DE COVID-19 ÎN ROMÂNIA — O REVIZUIRE SISTEMATICĂ

Prin evaluarea modelelor de utilizare a antimicrobienelelor și a rezistenței în timpul pandemiei de COVID-19, studiul relevă modul în care sistemul de sănătate românesc — deja afectat de deficite structurale — a înregistrat o creștere a infecțiilor MDR, agravată de perturbările legate de pandemie, precum șederile prelungite în ATI, întârzierile diagnostice și prescrierea empirică a antibioticelor.

Constatările subliniază natura cumulativă a crizei: deși COVID-19 a fost preocuparea imediată, pandemia a accelerat provocările microbiene preexistente. Patogeni rezistenți, în special *K. pneumoniae* producătoare de carbapenemaze, *A. baumannii* MDR și *E. coli* producătoare de ESBL, au devenit tot mai prevalenți, afectând adesea populațiile cele mai vulnerabile — pacienți vârstnici, imunocompromiși și cei care necesitau îngrijiri invazive.

Cartografierea acestor tendințe pe peisajul epidemiologic al României scoate la iveală discrepanțe semnificative în supraveghere, capacitate de laborator și alocarea resurselor

regionale. Lipsa raportării în timp real și întârzierile în diagnosticare au împiedicat răspunsurile rapide la focare, permițând propagarea tulpinilor rezistente. Mai mult, revizuirea evidențiază absența studiilor la scară națională privind tendințele AMR în timpul pandemiei, subliniind nevoia urgentă de sisteme integrate și standardizate de date, aliniate la eforturi internaționale precum EARS-Net și GLASS.

Această revizuire sistematică a urmat ghidurile PRISMA și a fost înregistrată în baza de date PROSPERO pentru a asigura rigoarea metodologică. Căutările în principalele baze de date (PubMed, Scopus, MEDLINE, Cochrane) au vizat studii despre infecții bacteriene și rezistența antimicrobiană în România în perioada pandemiei de COVID-19 (2020–2022). După eliminarea duplicatelor și procesul de screening, studiile eligibile au fost evaluate folosind instrumente standardizate, iar datele demografice, clinice și despre profilurile de rezistență au fost extrase. Calitatea studiilor a fost evaluată utilizând listele de verificare NHLBI, permițând o clasificare transparentă a fiabilității metodologice. Procesul a identificat 2740 de articole, dintre care 577 au fost unice. După screening-ul titlurilor, rezumatelor și textelor integrale, au fost incluse 87 de studii — majoritatea cercetări originale, câteva rapoarte de caz și o serie de cazuri. Cele mai multe studii au fost clasificate ca având calitate medie, iar 25% au fost considerate de înaltă calitate. Acest set de date formează nucleul analitic al tezei și reflectă un efort direcționat de a sintetiza date bacteriologice și AMR din România în perioada pandemiei.

Dintre cele 87 de studii incluse, majoritatea (peste 80%) au raportat date la nivel de pacient, acoperind peste 21.000 de indivizi, dintre care aproximativ două treimi aveau infecții bacteriene confirmate microbiologic. Un subset suplimentar s-a concentrat pe episoade de infecție sau metrici combinate, capturând aproape 18.000 de probe separate. Acoperirea temporală a variat: în timp ce 44% dintre studii s-au concentrat exclusiv pe perioada pandemiei (2020–2022), altele au inclus intervale pre- sau post-pandemice, deși 39% nu au specificat clar dimensiunea eșantionului pentru perioada de interes. Raportarea demografică a fost eterogenă; vârsta medie a pacienților incluși a fost de 57,94 ani, în timp ce distribuția pe sexe, raportată în 70% dintre studii, a arătat un raport aproape egal între bărbați și femei, cu o ușoară tendință către femei în studiile cu eșantion exclusiv pe un sex. Geografic, regiunea de Vest și Bucureștiul au fost cel mai bine reprezentate, contribuind cu 24%, respectiv 23% din studii, în timp ce Sudul nu a fost deloc reprezentat — evidențiind disparități semnificative în producția de cercetare la nivel național. Durata spitalizării a fost raportată în aproape jumătate dintre studii, cu o medie agregată de 18 zile și o mediană de 12 zile. Datele legate de ATI au arătat aproape 10.400 de internări, 54% dintre acestea în perioada pandemiei, deși doar o fracțiune au fost atribuite infecțiilor bacteriene confirmate. Datele privind mortalitatea au arătat o rată de deces de 13,56% în ansamblu, cu peste 22% din aceste decese în timpul pandemiei și 5% atribuite direct infecțiilor bacteriene, subliniind riscurile suplimentare pentru pacienții spitalizați cu COVID-19.

Originea izolațiilor bacterieni a fost documentată în peste 93% dintre cele 87 de studii incluse, deși doar 56% au oferit date specifice pentru perioada pandemiei (2020–2022). Aproximativ un sfert dintre studii au descris izolați provenind din mai multe secții, secțiile de boli infecțioase, pneumoftiziologie și terapie intensivă (ATI) fiind cele mai frecvent menționate surse de probe bacteriene atât pentru perioada totală de studiu, cât și pentru intervalul

pandemic. Originea probelor a fost variată: cele mai frecvente au fost probele urinare, urmate de hemoculturi, exsudate de plagă, probe de scaun și secreții din tractul respirator, reflectând diversitatea clinică a surselor de infecție în timpul spitalizărilor cauzate de COVID-19.

Metodele de diagnostic au variat semnificativ între studii, fiind utilizate în mod frecvent tehnici clasice de cultură, sisteme automate precum Vitek 2 și spectrometria de masă MALDI-TOF. În total, au fost identificate 39.823 de tulpini bacteriene, dintre care 12.060 (30,68%) au provenit în mod specific din perioada pandemiei. Cocii Gram-pozitivi — în special *S. aureus* și stafilococii coagulazo-negativi (CoNS) — au dominat acest grup, iar dintre bacilii Gram-negativi, *E. coli* și *Klebsiella* spp. au fost cei mai prevalenți. Patogeni oportuniști precum *P. aeruginosa* și *A. baumannii* au menținut o prezență constantă pe durata pandemiei, subliniind asocierea lor cu infecțiile nosocomiale și vulnerabilitatea pacienților cu COVID-19.

Testarea susceptibilității antimicrobiene (AST) a fost detaliată în aproape jumătate dintre studiile analizate, însă doar un sfert dintre acestea au specificat clar metodele utilizate în perioada pandemică (2020–2022). Sisteme automatizate precum Vitek 2, BD Phoenix și Sensititre au fost frecvent utilizate, deși o parte din studii nu au clarificat metodele de testare sau standardele de interpretare. Dintre studiile care au oferit aceste informații, ghidurile CLSI și EUCAST au fost folosite în proporții aproape egale, evidențiind o variație metodologică între laboratoarele românești. Această lipsă de uniformitate, în special în raportarea rezistenței în perioada pandemiei, creează dificultăți de comparare între studii și ridică probleme legate de transparența datelor.

Tendențele rezistenței la diverse clase de antibiotice au prezentat fluctuații semnificative între fazele pre-pandemică, pandemică și post-pandemică. Penicilinele precum ampicilina și amoxicilina au fost raportate mai frecvent după pandemie, în timp ce cefalosporinele de generația a treia, carbapenemele și fluorochinolonele precum ciprofloxacină au fost intens utilizate în timpul pandemiei, datorită spectrului lor larg de acțiune. Aminoglicozidele au avut o utilizare stabilă, cu gentamicina și amikacina ca fiind cele mai comune, iar polimixinele — în special colistina — au fost tot mai frecvent utilizate în secțiile ATI. Datele privind fenotipurile de rezistență, deși inconsistente în ceea ce privește stratificarea pe secții sau context clinic, au indicat o povară semnificativă de organisme MDR, XDR și PDR — în special în rândul *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. și *S. aureus*.

Mai exact, *Klebsiella* spp. a apărut ca o sursă principală de rezistență multidrog, contribuind cu peste 2.200 de tulpini MDR și zeci de izolați XDR și rezistenți la carbapeneme. Alte organisme cu încărcătură ridicată au inclus *E. coli*, *P. aeruginosa* și *A. baumannii*, care au arătat niveluri alarmante de rezistență în studiile axate pe perioada pandemiei. Patogenii Gram-pozitivi au demonstrat, de asemenea, rezistență notabilă: MRSA a reprezentat aproape toate tulpinile *S. aureus* MDR, în timp ce MRCoNS și VRE au fost prevalente în rândul *S. epidermidis* și *Enterococcus* spp., respectiv. Aceste tendințe subliniază amploarea și diversitatea peisajului AMR din spitalele românești, în special sub presiunea antimicrobiană indusă de pandemie.

STUDIILE 2 ȘI 3: IMPACTUL PANDEMIEI COVID-19 ASUPRA TENDINȚELOR INFECȚIILOR MICROBINE PEDIATRICE, MODELELOR DE REZISTENȚĂ ȘI RATELOR DE ABANDON ÎN VESTUL ROMÂNIEI – UN STUDIU INTERDISCIPLINAR

Revizuirea sistematică, bazată pe 87 de studii realizate în România, a oferit o evaluare cuprinzătoare a infecțiilor bacteriene și a rezistenței antimicrobiene (AMR) în timpul pandemiei de COVID-19, scoțând în evidență rate alarmant de ridicate ale fenotipurilor MDR (multirezistente), XDR (extins rezistente) și PDR (pan-rezistente), în special în cazul tulpinilor *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. și *Acinetobacter* spp. Aceste tendințe de rezistență au fost deosebit de accentuate în secțiile de terapie intensivă și în cele de boli infecțioase, fiind adesea însoțite de rate mari de MRSA, VRE și organisme producătoare de ESBL. Una dintre limitările majore identificate în cadrul revizuirii a fost subreprezentarea severă a populațiilor pediatrice, doar 2 studii (2,30%) concentrându-se pe copii, în ciuda dovezilor tot mai numeroase care indicau vulnerabilitatea acestora în valurile pandemice ulterioare. Îngrijirea pediatrică a fost grav afectată de întâzieri în tratamente, vaccinări amânate și acces redus la servicii medicale – afectând în special copiii din zonele rurale, instituționalizați sau din familii cu venituri reduse. Supradozarea antibioticelor cu spectru larg în aceste contexte a ridicat îngrijorări suplimentare privind accelerarea AMR în rândul copiilor. Ca răspuns, partea a doua a tezei își mută atenția spre analiza tendințelor infecțiilor pediatrice, cu un dublu accent: asupra modelelor microbiene și a deficiențelor structurale din sistemul de sănătate.

O dimensiune socială importantă a studiului abordează problema abandonului pediatric în spitalele din România. Deja printre cele mai ridicate din Europa înainte de pandemie, abandonul copiilor a fost probabil exacerbat de restricțiile impuse, dificultățile economice și accesul limitat la spitale – contribuind la o posibilă subraportare a cazurilor noi. Combinând supravegherea microbiologică cu problematica socio-clinică a abandonului, cercetarea își propune să fundamenteze politici de sănătate pediatrică mai echitabile și mai bine direcționate în România. Această parte a studiului a avut ca obiectiv examinarea detaliată a infecțiilor microbiene pediatrice și a tendințelor AMR într-un spital terțiar de copii din vestul României, pe trei perioade epidemiologice cheie: înainte, în timpul și după pandemia COVID-19. S-a axat pe analiza distribuției agenților patogeni, a poverii infecțiilor și a variațiilor în rezultatele spitalizării în funcție de secții și caracteristici demografice. De asemenea, cercetarea a explorat fenomenul abandonului pediatric în spital, evaluând corelația acestuia cu severitatea infecției și durata internării, precum și agravarea sa posibilă în timpul pandemiei.

Studiul observațional retrospectiv s-a desfășurat la Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Louis Țurcanu” din Timișoara, România, acoperind trei faze epidemiologice: pre-pandemie (2019), pandemie (2021) și post-pandemie (2023). Obiectivul a fost evaluarea infecțiilor microbiene pediatrice, a tendințelor AMR și a ratelor de abandon spitalicesc. Pentru includere, pacienții trebuiau să aibă o infecție microbiană confirmată și date demografice complete. Identificarea microorganismelor a respectat protocoalele standard ale spitalului, incluzând culturi, sisteme automate Vitek 2 Compact și MALDI-TOF. Testarea susceptibilității antimicrobiene (AST) s-a realizat în principal prin difuzie pe disc, interpretată conform ghidurilor CLSI în 2019 și 2021, și EUCAST în 2023, cu clasificarea rezistenței conform

schemelor MDR, XDR și PDR. Studiul a evaluat o gamă largă de antibiotice și antifungice, iar abandonul spitalicesc a fost definit ca o întârziere a externării din cauza absenței unui tutore legal. Analizele statistice au fost realizate cu ajutorul programelor MedCalc și G*Power, utilizând teste non-parametrice și categorice adecvate. Rapoartele de incidență (IRR) au comparat ratele de infecție și abandon între cei trei ani, iar regresia logistică a fost folosită pentru a identifica predictorii ai abandonului.

Un total de 3.530 de pacienți pediatrici și 6.885 de probe microbiologice au fost analizate în cele trei momente temporale — 2019, 2021 și 2023. Cel mai scăzut număr de pacienți și probe a fost înregistrat în anul pandemic (2021), cu creșteri semnificative statistic atât în perioada pre-pandemică, cât și în cea post-pandemică, ceea ce indică o scădere a activității de diagnostic în timpul COVID-19. Copiii din mediul urban au constituit majoritatea (53,71%) coortei, deși reprezentarea rurală a crescut în 2023, iar sugarii au reprezentat constant cel mai numeros grup de vârstă, în special în 2021. Deși s-a observat o ușoară predominanță masculină (51,25%), distribuțiile pe sexe și vârsta mediană au rămas constante din punct de vedere statistic între ani.

Pe parcursul perioadei de studiu, tendințele specifice secțiilor spitalicești au evidențiat schimbări semnificative în modul de livrare a serviciilor de îngrijire pediatrică în timpul pandemiei COVID-19. Deși Secția Ambulatorie a gestionat cel mai mare volum total de pacienți (23,34%), aceasta a înregistrat o scădere notabilă a internărilor în perioada pandemică (de la 26,25% în 2019 la 20,52% în 2021), cu o revenire modestă în 2023. În schimb, internările în secțiile ATI și Chirurgie au crescut brusc în 2021, sugerând o agravare a severității și complexității infecțiilor, urmate apoi de scăderi marcante după pandemie. În mod similar, serviciile de dializă au atins un vârf în 2021, probabil ca urmare a complicațiilor legate de COVID-19, înainte de a scădea din nou. Alte secții, precum Neonatologia și Cardiologia, au înregistrat o creștere treptată a cazurilor până în 2023, în timp ce serviciile de Urgență și Pneumologie au raportat creșteri în perioada pandemică care s-au stabilizat ulterior. Serviciile ORL au înregistrat o utilizare redusă pe întreaga perioadă, cel mai probabil influențată de schimbările în politicile de prevenire a infecțiilor. Datele privind durata medie a spitalizării (LoS) susțin impactul pandemiei asupra complexității îngrijirii: durata mediană a spitalizării a fost semnificativ mai mare în anul pandemic (5 zile în 2021), comparativ cu perioadele pre-pandemică (3 zile în 2019) și post-pandemică (2 zile în 2023), cu o tendință similară observată și în subgrupul pacienților ATI/NICU (vârf de 10 zile în 2021, urmat de o ușoară scădere).

Probele urinare au fost cele mai frecvent recoltate în toți anii de studiu (28,85%), menținând o frecvență constantă. În schimb, secrețiile nazale și faringiene au înregistrat reduceri semnificative în timpul pandemiei, cel mai probabil din cauza modificărilor în prioritățile de diagnostic și a reducerii testărilor respiratorii pentru afecțiuni non-COVID, revenind parțial în 2023. Secrețiile din plăgi, probele din catetere și aspiratele hipofaringiene au crescut în perioada pandemică — sugerând infecții mai severe sau asociate dispozitivelor — înainte de a scădea din nou după pandemie. Recoltările de sânge și secreții conjunctivale au crescut constant din 2019 până în 2023, în timp ce probe mai rar recoltate, precum fluidele peritoneale și pleurale, au înregistrat un declin după debutul pandemiei, reflectând priorități clinice și tipare de diagnostic în schimbare în îngrijirea pediatrică.

Dintre toate probele analizate, *E. coli* a fost cel mai frecvent agent patogen izolat, urmat de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* și *Streptococcus* beta-hemolitic de grup A. Distribuția agenților patogeni a variat în funcție de secția clinică: *E. coli* a dominat în secțiile generale, *P. aeruginosa* și *C. albicans* au fost cele mai prevalente în ATI, iar *S. aureus* a predominat în secțiile de ambulatoriu și urgențe. Mai mulți agenți patogeni au prezentat fluctuații temporale semnificative: *S. aureus*, speciile non-albicans de *Candida* și *Serratia* spp. au scăzut post-pandemie, în timp ce *S. pneumoniae* a înregistrat o revenire parțială după o scădere inițială. De remarcat este *Streptococcus* de grup A, care a înregistrat un declin abrupt în timpul pandemiei, urmat de o creștere accentuată după 2021 – sugerând modificări în dinamica transmiterii sau în prioritățile de diagnostic.

Vârfuri specifice pandemiei au fost observate pentru *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *C. albicans* și *Enterobacter* spp., în special în secțiile ATI, în timp ce CoNS și speciile de *Enterococcus* non-faecalis/faecium au devenit mai frecvente post-pandemie. În ambulatoriu s-a remarcat o creștere semnificativă a *S. aureus* și o revenire dramatică a *Streptococcus* de grup A până în 2023. Între timp, datele din ATI au arătat creșteri pentru *S. maltophilia* și *E. faecium*, în timp ce *C. parapsilosis*, *S. paucimobilis* și anumite tulpini de *Klebsiella* și *Enterococcus* au scăzut sau au prezentat fluctuații. Peisajul microbial în schimbare reflectă atât modificările în practicile de control al infecțiilor, cât și schimbările mai ample induse de pandemie în furnizarea serviciilor de sănătate și în metodele de diagnostic.

Testarea susceptibilității antimicrobiene (AST) pe parcursul celor trei perioade de timp a evidențiat fluctuații substanțiale atât în frecvența testării, cât și în profilurile de rezistență pentru diverse clase de antibiotice și antifungice. Fluorochinolonele, aminoglicozidele și penicilinele au fost cele mai frecvent testate, cu rezistență identificată în aproape 70% din toate probele. Deși unele clase, precum penicilinele, au menținut rate ridicate de rezistență pe întreaga perioadă, altele, inclusiv cefalosporinele, carbapenemele și aminoglicozidele, au înregistrat scăderi notabile ale rezistenței în timpul sau după pandemie. În schimb, clase precum fluorochinolonele, antibioticele urinare și antimicrobienele diverse au înregistrat creșteri ale rezistenței, în special în perioada post-pandemică. Mai multe antifungice, în special polienele și azolii, au arătat o scădere a rezistenței în 2021, urmată de o revenire la sau peste nivelurile pre-pandemice.

Atunci când datele au fost stratificate în funcție de mediul clinic, au apărut tendințe distincte ale rezistenței. În rândul pacienților internați (cu excepția celor din ATI), rezistența la peniciline și antibiotice de rezervă a crescut în timpul pandemiei, în timp ce clase precum cefalosporinele și macrolidele au prezentat un declin. În ambulatoriu și la urgență, rezistența a scăzut în perioada pandemică, dar a revenit la niveluri de bază sau chiar mai ridicate până în 2023, cu creșteri accentuate în cazul fluorochinolonei. Probele din ATI au arătat cele mai ridicate niveluri inițiale de rezistență, cu un minim în 2021 pentru aminoglicozide și azoli, urmat de o revenire parțială sau o escaladare. Notabil este faptul că rezistența la antibiotice urinare și macrolide a crescut semnificativ post-pandemie în secțiile de terapie intensivă. Aceste modele dinamice reflectă modificările din utilizarea antibioticelor și din practicile de control al infecțiilor din perioada pandemiei, subliniind necesitatea unei politici de utilizare rațională a antimicrobienei, adaptată contextului clinic și riscurilor specifice perioadei.

Distribuția fenotipurilor de rezistență în rândul izolațiilor microbiologice pediatrie din vestul României între 2019 și 2023 a evidențiat tendințe temporale și contextuale semnificative, influențate în special de pandemia COVID-19. Rezistența la metilicilină a crescut marcant în perioada pandemică atât pentru *S. aureus* (MRSA, de la 15,28% la 36,08%), cât și pentru stafilococii coagulazo-negativi (MRCoNS, de la 52,10% la 81,43%), cu o scădere importantă pentru MRCoNS după pandemie, în timp ce MRSA a rămas la niveluri ridicate. VRE, deși prezent, nu a înregistrat modificări semnificative în timp. Producătorii de ESBL au reprezentat 19,22% din toate izolatele, cu *E. coli*, *K. pneumoniae* și *P. aeruginosa* ca lideri de prevalență. Expresia ESBL a scăzut în timpul și după pandemie în majoritatea organismelor, cu excepția *K. pneumoniae*, care a înregistrat o creștere post-pandemie. CRO, predominant în *P. aeruginosa*, a atins un vârf în 2021 și a scăzut abrupt ulterior, cu excepția *K. pneumoniae*, care a continuat să crească. Fenotipurile MDR au fost extrem de prevalente (68,12%), cu o scădere în anul pandemiei urmată de o revenire în 2023. Remarcabil este faptul că *S. aureus* a atins cea mai mare frecvență MDR post-pandemie, în timp ce *S. pneumoniae*, *Enterobacter* spp. și *A. baumannii* au prezentat scăderi. Izolatele XDR — 7,92% în total — au urmat un traseu similar, în scădere în 2021 și stabilizându-se ulterior, cu *K. pneumoniae* lider. Aceste dinamici de rezistență au variat în funcție de setarea spitalicească: pacienții internați au prezentat rate MDR stabile sau în creștere pentru *P. aeruginosa* și *K. pneumoniae*, în timp ce în ATI s-au înregistrat niveluri constant ridicate de rezistență, cu o scădere notabilă în 2023 pentru XDR. Între timp, pacienții neinternati au prezentat tendințe descrescătoare ale MDR pentru toate organismele cheie. Aceste constatări subliniază impactul practicilor clinice pandemice asupra evoluției rezistenței, în special utilizarea crescută a agenților cu spectru larg și accesul întârziat la îngrijiri, evidențiind nevoia urgentă de supraveghere robustă și politici antimicrobiene bine direcționate în pediatria românească.

Un obiectiv secundar al studiului a fost explorarea legăturii dintre abandonul pediatric în spitale și infecțiile microbiene, dezvăluind o intersecție alarmantă între vulnerabilitatea medicală și neglijarea socială. Deși la nivel național cazurile de abandon au scăzut de la 683 în 2019 la 295 în 2023, în regiunea de vest și în județul Timiș s-au înregistrat creșteri proporționale, sugerând existența unor disparități locale. La Spitalul de Copii „Louis Turcanu”, ratele de abandon au fluctuat, atingând un vârf în 2023 (1,69%), iar infecțiile microbiene au fost identificate în majoritatea cazurilor atât în 2019, cât și în 2023. Remarcabil este faptul că *S. maltophilia* a fost semnificativ mai frecventă în rândul copiilor abandonați în 2023.

Rezistența antimicrobiană în rândul pacienților abandonați a evidențiat tendințe îngrijorătoare. În 2019, s-au înregistrat rate semnificativ mai mari de rezistență la fluorochinolone, aminoglicozide și antibiotice de rezervă în acest grup, iar în 2023 s-a observat o rezistență crescută la cefalosporine și antibiotice urinare. Două modele de regresie logistică au fost utilizate pentru a examina predictorii abandonului. Primul model a identificat spitalizarea prelungită, prematuritatea și malnutriția ca factori majori de risc. Al doilea model a arătat că rezistența la cefalosporine și la antibioticele de rezervă a crescut semnificativ probabilitatea de abandon, probabil din cauza asocierii cu tratamente complexe și de lungă durată. Aceste rezultate subliniază nevoia urgentă de a integra strategiile medicale și sociale în îngrijirea pediatrică pentru a preveni abandonul și a îmbunătăți rezultatele clinice.

CONCLUZII

Această teză doctorală oferă o evaluare cuprinzătoare a modului în care pandemia de COVID-19 a influențat tendințele infecțiilor bacteriene, rezistența antimicrobiană (AMR) și vulnerabilitățile sistemului de sănătate din România, cu un accent dual asupra populației generale și celei pediatrice. Printr-o analiză sistematică a literaturii la nivel național și prin studii clinice detaliate derulate într-un spital pediatric terțiar, cercetarea relevă o reapariție îngrijorătoare post-pandemie a fenotipurilor MDR și XDR, în special în cazul *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* și *Enterobacter* spp. Aceste tendințe reflectă consecințele pe termen lung ale utilizării empirice excesive a antibioticelor, ale disfuncțiilor în supravegherea infecțiilor și ale slăbirii protocoalelor de control al infecțiilor în timpul crizei sanitare. Ratele ridicate de rezistență, în special în secțiile de terapie intensivă, precum și variabilitatea în metodele de diagnostic și raportare, subliniază provocările sistemice ale României în gestionarea eficientă a AMR.

În cohorta pediatrică, analizată pe parcursul a trei puncte temporale distincte (2019, 2021 și 2023), activitatea diagnostică, profilurile patogenilor și modelele de rezistență antimicrobiană au fluctuat sub presiunea pandemiei. *E. coli* și *S. aureus* au rămas patogeni predominanți, în timp ce rezistența la fluorochinolone și antibiotice urinare a crescut semnificativ. Deși la nivel național rata de abandon pediatric a scăzut, cazurile regionale și instituționale au crescut, în special în județul Timiș, unde copiii abandonați au prezentat o povară infecțioasă și de rezistență mai mare. Analiza multivariată a asociat șederea prelungită în spital, prematuritatea, malnutriția și rezistența la cefalosporine și antibiotice de rezervă cu un risc crescut de abandon. Teza se încheie cu un apel pentru armonizarea datelor la nivel național, investiții în îngrijirea pediatrică și strategii interdisciplinare care să abordeze atât determinanții medicali, cât și cei sociali ai sănătății, poziționând criza COVID-19 ca un punct de cotitură în pregătirea României împotriva AMR.