

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “VICTOR BABES”
TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL DE MICROBIOLOGIE**

DALIU PETRINELA



TEZĂ DE DOCTORAT
PROFILUL MICROBIOLOGIC ȘI REZISTENȚA
ANTIMICROBIANĂ A PATOGENILOR RESPIRATORII
BACTERIENI ȘI FUNGICI IMPLICAȚI ÎN COINFECTIILE ȘI
SUPRAINFECTIILE ASOCIATE COVID-19 ȘI IMPACTUL LOR
CLINIC

Coordonator Științific

PROF. UNIV. DR. HABIL MUNTEAN DELIA

Timisoara



Această teză de doctorat dezvoltă o investigație coerentă și relevantă clinic asupra uneia dintre cele mai importante, dar adesea insuficient evidențiate, dimensiuni ale COVID-19 sever: rolul infecțiilor pulmonare secundare în modelarea inflamației, a severității bolii, a disfuncției de organ și a evoluției clinice. Lucrarea este structurată într-un format academic clasic, cu o parte generală care construiește fundalul conceptual și științific al temei și o parte specială care include trei studii originale dedicate coinfecțiilor fungice, suprainfecțiilor bacteriene și infecțiilor bacteriene respiratorii și pleurale stratificate pe vârstă la pacienții octogenari. În toate secțiunile sale, teza susține că COVID-19 sever nu trebuie interpretat ca o boală exclusiv virală. Dimpotrivă, este prezentat ca un proces patologic dinamic în care leziunea pulmonară virală, dereglarea imună, îngrijirea invazivă, expunerea la antimicrobiene și ecologia spitalicească interacționează pentru a crea condiții favorabile infecției secundare. În consecință, coinfecțiile și suprainfecțiile pulmonare sunt plasate în centrul raționamentului clinic, nu tratate ca simple complicații incidentale. Prin integrarea fiziopatologiei, microbiologiei, scorurilor clinice de severitate și implicațiilor terapeutice, lucrarea oferă o contribuție largă, dar bine focalizată, la înțelegerea COVID-19 complicat la adulții spitalizați și la subgrupurile deosebit de vulnerabile.

Partea generală debutează prin încadrarea pneumoniei COVID-19 severe ca un sindrom heterogen, modelat de determinanți epidemiologici, biologici și sociali. Teza trece în revistă dovezile care arată că boala severă se asociază cu vârsta avansată, sexul masculin, obezitatea, diabetul zaharat, bolile cardiovasculare, boala cronică de rinichi, fragilitatea, fumatul și dezavantajul social. Se subliniază faptul că forma severă de COVID-19 nu reprezintă un fenomen uniform, ci punctul final al unei vulnerabilități stratificate. Severitatea clinică este prezentată ca rezultatul interacțiunii dintre susceptibilitatea gazdei și deteriorarea inflamatorie și respiratorie dinamică. Această primă secțiune este importantă deoarece pregătește terenul pentru analiza ulterioară a complicațiilor infecțioase. Prin clarificarea profilului pacienților care dezvoltă COVID-19 sever și a mecanismelor implicate, teza creează puntea conceptuală către infecția pulmonară secundară. Partea generală evidențiază, de asemenea, modul în care simptomele, constatările imagistice și anomaliile de laborator, precum hipoxemia, infiltratele difuze, limfopenia, creșterea proteinei C reactive și markerii tromboinflamatori, semnalează o evoluție mai periculoasă. În acest mod, teza stabilește că infecțiile secundare trebuie studiate în contextul mai larg al pneumoniei virale severe, deoarece gazda cea mai predispusă la suprainfecție bacteriană sau fungică este și gazda al cărei plămân a suferit deja o leziune structurală și imunologică majoră.

O contribuție majoră a părții generale este explicația detaliată a modului în care apărarea pulmonară a gazdei devine compromisă în COVID-19 sever. Teza arată că susceptibilitatea la infecție secundară nu este doar consecința spitalizării

prelungite, ci și rezultatul direct al unei perturbări biologice profunde la nivel pulmonar. Sunt discutate leziunea epitelială, disfuncția surfactantului, afectarea clearance-ului mucociliar, lezarea endoteliului, activarea complementului, formarea capcanelor extracelulare neutrofile, imunotromboza, dereglarea monocitelor și macrofagelor, defectele semnalizării interferonului, limfopenia și epuizarea celulelor T. Împreună, aceste mecanisme creează ceea ce teza descrie drept o vulnerabilitate imună pulmonară dobândită. Acest fundal este esențial deoarece explică de ce tractul respirator inferior devine din ce în ce mai permisiv pentru bacterii și fungi oportuniști pe măsură ce COVID-19 sever evoluează. Plămânul este descris ca un mediu biologic transformat, în care barierele împotriva invaziei microbiene sunt slăbite exact în momentul în care inflamația sistemică este amplificată. Acest paradox al hiperinflamației concomitente cu o apărare antimicrobiană inefficientă ajută la explicarea faptului că pacienții cu COVID-19 avansat se pot agrava prin infecție secundară chiar în condițiile unui răspuns inflamator deja marcat. Teza utilizează acest cadru pentru a justifica importanța vigilenței microbiologice și a reevaluării clinice dinamice în pneumonia severă cu SARS-CoV-2.

Teza se concentrează apoi asupra profilului microbiologic al coinfecțiilor și suprainfecțiilor pulmonare în COVID-19, diferențiind clar coinfecția precoce de suprainfecția nosocomială tardivă. Această distincție este prezentată ca esențială deoarece agenții patogeni și implicațiile clinice diferă în funcție de momentul apariției. Coinfecția bacteriană precoce la internare este descrisă ca relativ rară, în timp ce suprainfecția apărută după 48 de ore de spitalizare este mult mai relevantă, mai ales la pacienții critici. Teza revizuieste dovezile care arată că infecțiile respiratorii tardive sunt dominate de patogeni asociați mediului spitalicesc, precum *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*. Sunt abordate și infecțiile fungice, în special aspergiloza pulmonară asociată COVID-19, recunoscând totodată că speciile de *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jirovecii* și *Mucorales* pot avea relevanță în anumite categorii de pacienți. Capitolul microbiologic nu rămâne doar la nivel descriptiv, ci subliniază că identificarea patogenului este inseparabilă de interpretarea momentului de apariție, a factorilor de risc ai gazdei, a strategiei diagnostice și a ecologiei locale a rezistenței. Acest capitol este deosebit de valoros deoarece pregătește cititorul pentru studiile originale, arătând că infecțiile pulmonare în COVID-19 sunt modelate de convergența dintre vulnerabilitatea biologică și ecologia microbială spitalicească. În consecință, infecția secundară este prezentată simultan ca problemă microbiologică și problemă clinică.

Un alt punct foarte important al părții generale este capitolul dedicat strategiilor diagnostice, principiilor terapeutice și stewardship-ului antimicrobian. Teza subliniază în mod repetat că agravarea în COVID-19 sever nu ar trebui să determine automat o escaladare necritică a terapiei antibacteriene sau antifungice. În schimb, autorul susține o abordare structurată, bazată pe recoltarea de probe microbiologice, utilizarea selectivă a biomarkerilor, interpretarea dinamică a tendințelor inflamatorii și reevaluarea repetată a terapiei empirice. Procalcitonina, proteina C reactivă, culturile din tractul respirator inferior, hemoculturile, lavajul bronhoalveolar, diagnosticul molecular rapid, galactomananul, PCR-ul și criteriile fungice integrate sunt discutate ca instrumente care ar trebui să rafineze suspiciunea clinică, nu să înlocuiască raționamentul microbiologic. Teza

accentuează și pericolul utilizării extinse a antibioticelor empirice în timpul pandemiei, mai ales în contextul unor rate relativ reduse de coinfecție bacteriană confirmată la internare. Această secțiune este centrală pentru teză deoarece leagă știința de bază de practica clinică. Ea demonstrează că evoluția în COVID-19 sever este influențată nu doar de agenții patogeni prezenți, ci și de inteligența investigației clinice, de capacitatea medicului de a diferenția infecția de progresia inflamatorie și de consecvența aplicării principiilor de stewardship. Astfel, această secțiune creează o tranziție solidă către partea specială, unde aceste concepte sunt testate în cohorte originale de pacienți.

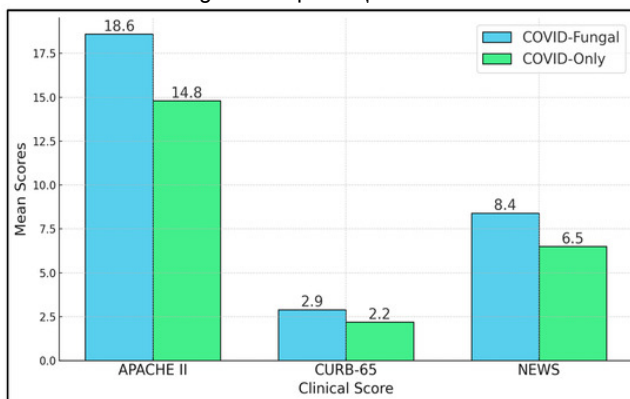


Figure 1 – Scoruri de severitate clinică.

Primul studiu original investighează coinfecțiile fungice pulmonare la 280 de adulți spitalizați cu COVID-19 confirmat prin RT-PCR, dintre care 64 au avut infecție fungică confirmată de laborator, iar 216 nu au prezentat implicare fungică. Rezultatele au arătat că boala fungică s-a asociat cu un fenotip clinic net mai sever. Pacienții cu infecție fungică au avut markeri inflamatori semnificativ mai mari, inclusiv CRP, procalcitonină, număr total de leucocite, raport neutrofile/limfocite și indice sistemic de inflamație imună, în timp ce albumina serică a fost mai scăzută. De asemenea, au prezentat scoruri de severitate mai nefavorabile, cu valori mai mari pentru APACHE II, CURB-65 și NEWS, precum și internări în ATI mai frecvente, necesar mai mare de ventilație mecanică și durată mai lungă de spitalizare. Mortalitatea a avut și ea o tendință nefavorabilă. Din punct de vedere microbiologic, spectrul fungic a fost larg și nu s-a limitat la un singur patogen, deși *Aspergillus fumigatus* și *Candida albicans* au predominat.

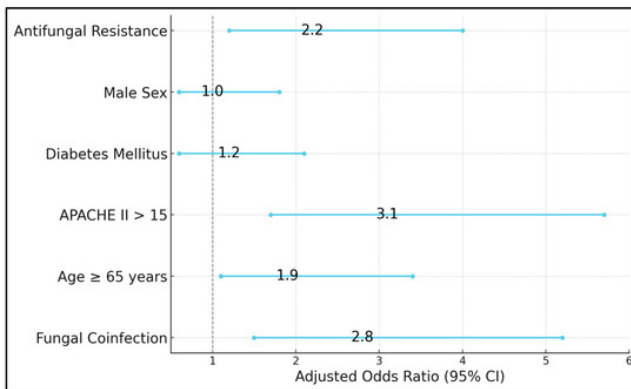


Figure 2 – Evaluarea factorilor de risc pentru internarea în ATI la pacienții cu COVID-19.

Au mai fost identificate *Candida non-albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jirovecii* și Mucorales. Studiul a demonstrat și existența unei rezistențe antifungice relevante clinic, cu rezistență importantă la azoli, echinocandine, amfotericină B și cu prezența multirezistenței. Mai mult, coinfecția fungică și rezistența antifungică au prezis independent internarea în ATI în analiza multivariată. Acest studiu susține concluzia că infecția fungică pulmonară nu reprezintă un acompaniament incidental al COVID-19 sever, ci un factor agravant major, asociat cu inflamație amplificată, instabilitate fiziologică crescută și o evoluție spitalicească mai complicată.

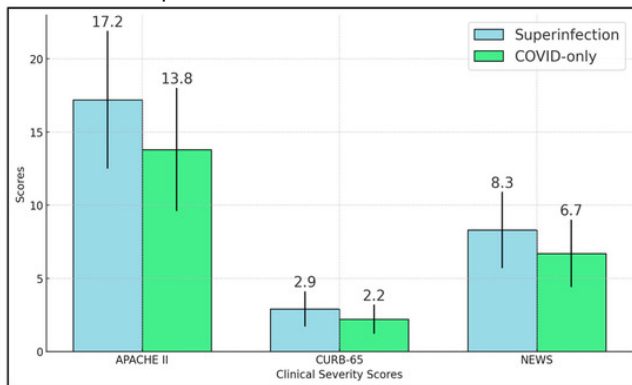


Figure 3 – Scoruri de severitate clinică în COVID-19.

Al doilea studiu original se concentrează asupra suprainfecției bacteriene după pneumonia cu SARS-CoV-2 într-o cohortă de 141 de adulți spitalizați, dintre care 58 au dezvoltat pneumonie bacteriană secundară, iar 83 au rămas fără infecție bacteriană documentată. Acest studiu arată că suprainfecția bacteriană s-a asociat cu inflamație mai accentuată, scoruri de severitate mai mari și rezultate

clinice mai nefavorabile. Comparativ cu grupul COVID fără infecție bacteriană, cohorta cu suprainfecție a avut valori semnificativ mai mari ale CRP, procalcitoninei, numărului total de leucocite, NLR și SII, precum și niveluri mai mici ale albuminei. Valorile APACHE II, CURB-65 și NEWS au fost, de asemenea, mai mari, reflectând o compromitere fiziologică mai profundă. Din punct de vedere clinic, suprainfecția bacteriană aproape a dublat necesitatea internării în ATI, a crescut substanțial necesarul de ventilație mecanică, a prelungit spitalizarea și s-a asociat cu o tendință nefavorabilă a mortalității.

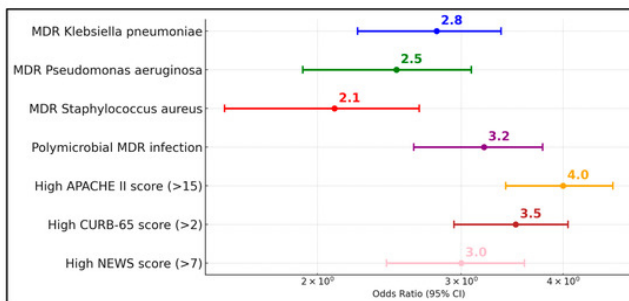


Figure 4 – Evaluarea factorilor de risc pentru internarea în ATI.

Profilul microbiologic a fost dominat de patogeni respiratori asociați mediului spitalicesc, în special *Klebsiella pneumoniae*, specii de *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus*, iar bacteriemia a fost prezentă într-un subgrup relevant de cazuri. O contribuție majoră a acestui studiu a fost analiza detaliată a rezistenței. Aproximativ o treime dintre suprainfecțiile bacteriene au implicat microorganisme multirezistente, în special *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus*. Mortalitatea a fost mult mai mare în infecțiile MDR comparativ cu cele non-MDR, iar expunerea anterioară la antibiotice a prezis independent apariția MDR. Prin urmare, acest studiu întărește argumentul central al tezei conform căruia suprainfecția bacteriană este o complicație clinică majoră în COVID-19, iar fenotipul de rezistență nu este doar o caracteristică de laborator, ci un determinant al complexității terapeutice și al prognosticului.

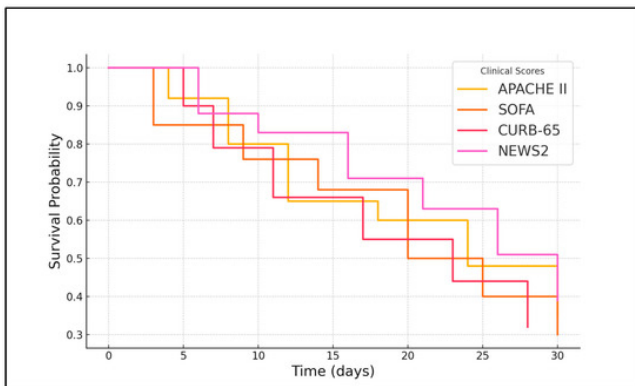


Figure 5 – Analiza Kaplan–Meier pentru dezvoltarea formei severe de COVID-19 la pacienții vârstnici.

Al treilea studiu original extinde perspectiva tezei prin focalizarea pe infecțiile bacteriene respiratorii și pleurale stratificate pe vârstă la adulții foarte vârstnici. Acesta a inclus 479 de adulți spitalizați cu COVID-19, comparând 152 de pacienți octogenari, cu vârsta de 80 de ani sau peste, cu 327 de adulți mai tineri, cu vârsta sub 65 de ani. Studiul a arătat că octogenarii aveau o povară mai mare a comorbidităților, forme mai severe de COVID-19 la momentul internării, utilizare mai frecventă a ATI, necesar mai mare de oxigen și ventilație și o mortalitate la 28 de zile semnificativ mai mare. Pneumonia bacteriană suprapusă, empiemul și bacteriemia au fost, de asemenea, mai frecvente în grupul vârstnic. Una dintre cele mai importante observații a fost că, deși pacienții vârstnici au prezentat mai frecvent infecție secundară și rezultate mult mai nefavorabile, spectrul patogenilor respiratori a fost în linii mari similar între grupele de vârstă. *Streptococcus pneumoniae*, MSSA, MRSA, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella* producătoare de ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* și alți bacili Gram-negativi au dominat ambele grupuri, sugerând că riscul suplimentar la octogenari a fost determinat mai ales de vulnerabilitatea gazdei decât de o microbiologie fundamental diferită. Studiul a acordat și o atenție deosebită infecției pleurale, arătând că empiemul a fost mai frecvent la octogenari și că culturile din lichidul pleural au evidențiat frecvent patogeni semnificativi clinic. Această perspectivă geriatrică reprezintă un punct forte major al tezei, deoarece arată că aceleași infecții secundare devin mult mai consecvente clinic atunci când apar la o gazdă cu rezervă fiziologică redusă.

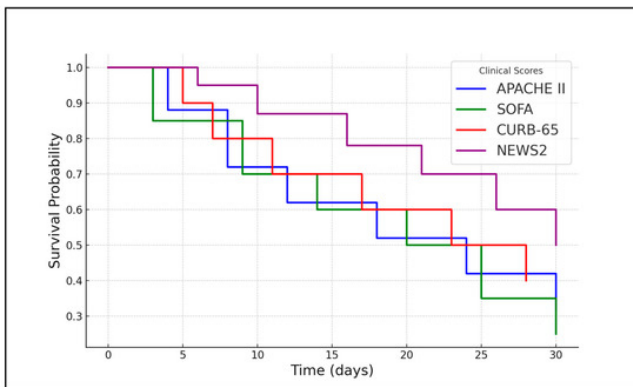


Figure 6 – Analiza Kaplan-Meier a mortalității la pacienții vârstnici cu vârsta peste 80 de ani după COVID-19.

Un rezultat central al studiului pe octogenari a fost relația dintre pneumonia bacteriană suprapusă și scorurile dinamice de severitate. Studiul a demonstrat că, la pacienții cu vârsta de 80 de ani sau peste, pneumonia secundară a crescut substanțial valorile SOFA și APACHE II în ziua a 5-a și s-a asociat cu creșteri dramatice ale internării în ATI și ale mortalității la 28 de zile. La octogenarii fără pneumonie suprapusă, internarea în ATI și mortalitatea au fost relativ mai reduse, însă în prezența pneumoniei, internarea în ATI a depășit jumătate dintre cazuri, iar mortalitatea a fost mai mare de o treime. Același tipar a fost observat și la adulții mai tineri, dar impactul absolut a fost mult mai mare la vârstnici. SOFA în ziua a 5-a s-a dovedit a fi cel mai puternic instrument prognostic la adulții foarte vârstnici, depășind scoruri mai simple precum CURB-65 și NEWS2 în estimarea mortalității. Această constatare este deosebit de importantă deoarece mută accentul de la evaluarea inițială la evaluarea dinamică a evoluției spitalicești. Studiul demonstrează că disfuncția de organ în evoluție, mai degrabă decât severitatea inițială statică, surprinde cel mai bine impactul clinic al pneumoniei bacteriene secundare la vârstnici. De asemenea, el transpune constatările microbiologice în implicații terapeutice practice, arătând că regimurile empirice mai înguste nu au asigurat frecvent o acoperire adecvată, în timp ce schemele bazate pe carbapeneme au păstrat o activitate mai bună împotriva patogenilor Gram-negativi rezistenți.

Privite împreună, cele trei studii originale formează o parte specială extrem de coerentă, care validează ipoteza tezei din mai multe unghiuri complementare. În primul rând, coinfectia fungică pulmonară identifică un fenotip COVID-19 mai inflamator și mai sever. În al doilea rând, suprainfecția bacteriană amplifică inflamația sistemică, agravează scorurile de severitate, crește utilizarea resurselor de terapie intensivă și introduce o povară importantă a multirezistenței. În al treilea rând, la octogenari, pneumonia bacteriană secundară interacționează cu fragilitatea gazdei și cu disfuncția de organ în evoluție, conducând la riscuri absolute de internare în ATI și deces deosebit de ridicate. În toate studiile apare același tipar comun: pacienții cu infecție pulmonară secundară nu sunt doar culturi pozitive, ci sunt în mod constant mai instabili, mai inflamatori, consumă mai multe resurse și prezintă un risc mai mare de evoluție nefavorabilă. Astfel, teza reușește să

integreze microbiologia, severitatea clinică, scorurile dinamice și stewardship-ul într-un model clinic unitar și relevant. În loc să prezinte infecția pulmonară secundară ca pe o colecție de complicații izolate, lucrarea demonstrează că aceste infecții remodelează întregul peisaj prognostic al pacienților spitalizați cu COVID-19. Acest fapt face teza solidă din punct de vedere științific și utilă din punct de vedere clinic, în special pentru bolile infecțioase, pneumologie, terapie intensivă și îngrijirea geriatrică.

În concluzie, această teză aduce o contribuție substanțială la înțelegerea COVID-19 complicat, demonstrând că infecțiile pulmonare secundare se numără printre cei mai importanți determinanți ai agravării evoluției spitalicești. Lucrarea arată că infecțiile fungice, suprainfecțiile bacteriene, profilurile de rezistență, infecția pleurală și disfuncția de organ în evoluție au toate relevanță directă pentru prognostic și management. De asemenea, teza accentuează faptul că confirmarea microbiologică trebuie urmărită activ, că scorurile de severitate trebuie interpretate dinamic și că tratamentul antimicrobian trebuie să rămână ghidat de principiile de stewardship chiar și la pacienții critici. Lucrarea este deosebit de valoroasă deoarece leagă raționamentul fiziopatologic larg de seturi specifice de date clinice și deoarece include un subgrup geriatric vulnerabil, adesea subreprezentat în cercetarea pandemică.

**“VICTOR BABES” UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
TIMISOARA
FACULTY OF MEDICINE
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY**

2026



DOCTORAL THESIS

**MICROBIOLOGICAL PROFILE AND ANTIMICROBIAL
RESISTANCE OF BACTERIAL AND FUNGAL RESPIRATORY
PATHOGENS INVOLVED IN COVID-19 ASSOCIATED
COINFECTIONS AND SUPERINFECTIONS AND THEIR
CLINICAL IMPACT**

Scientific Coordinator
PROF. UNIV. DR. HABIL MUNTEAN DELIA

T i m i s o a r a

This doctoral thesis develops a coherent and clinically relevant investigation into one of the most important but often underappreciated dimensions of severe COVID-19: the role of secondary pulmonary infections in shaping inflammation, disease severity, organ dysfunction, and outcome. The work is structured in a classical academic format, with a general part that builds the conceptual and scientific background of the topic and a special part that presents three original studies focused on fungal coinfections, bacterial superinfections, and age-stratified respiratory and pleural bacterial infections in octogenarians. Across all sections, the thesis argues that severe COVID-19 should not be interpreted as a purely viral disease. Instead, it is presented as a dynamic pathological state in which viral lung injury, dysregulated immunity, invasive care, antimicrobial exposure, and hospital ecology interact to create favorable conditions for secondary infection. The thesis therefore places pulmonary coinfections and superinfections at the center of clinical reasoning, rather than treating them as incidental complications. By integrating pathophysiology, microbiology, clinical scoring systems, and therapeutic implications, the work offers a broad yet focused contribution to the understanding of complicated COVID-19 in hospitalized adults and particularly vulnerable subgroups.

The general part begins by framing severe COVID-19 pneumonia as a heterogeneous syndrome shaped by epidemiological, biological, and social determinants. The thesis reviews evidence showing that severe disease is associated with advanced age, male sex, obesity, diabetes, cardiovascular disease, chronic kidney disease, frailty, smoking, and social disadvantage. It emphasizes that severe COVID-19 is not a uniform phenomenon, but rather the endpoint of layered vulnerability. Clinical severity is shown to emerge through the interaction between baseline host susceptibility and dynamic inflammatory and respiratory deterioration. This first section is important because it lays the groundwork for the later analysis of infectious complications. By clarifying who develops severe COVID-19 and why, the thesis creates the conceptual bridge toward secondary pulmonary infection. The general part also highlights how symptoms, radiological findings, and laboratory abnormalities such as hypoxemia, diffuse infiltrates, lymphopenia, elevated C-reactive protein, and thromboinflammatory markers signal a more dangerous clinical course. In this way, the thesis establishes that secondary infections must be studied within the broader context of severe viral pneumonia, because the host most likely to develop fungal or bacterial superinfection is also the host whose lung has already undergone major structural and immunological damage.

A major contribution of the general part is its detailed explanation of how pulmonary host defense becomes impaired in severe COVID-19. The thesis shows that susceptibility to secondary infection is not merely a consequence of prolonged hospitalization, but also a direct result of profound biological disruption in the infected lung. It discusses epithelial injury, surfactant dysfunction, impaired mucociliary clearance, endothelial damage, complement activation, neutrophil extracellular trap formation, immunothrombosis, monocyte and macrophage dysregulation, defective interferon signaling, lymphopenia, and T-cell exhaustion. Together, these mechanisms create what the thesis describes as an acquired pulmonary immune vulnerability. This background is essential because it explains why the lower respiratory tract becomes increasingly permissive to opportunistic bacteria and fungi as severe COVID-19 evolves. The lung is portrayed as a biologically transformed environment in which the barriers against microbial invasion are weakened at the same time that systemic inflammation is intensified. This paradox of simultaneous hyperinflammation and ineffective antimicrobial defense helps explain why patients with advanced COVID-19 may worsen because of secondary infection even while already displaying marked inflammatory responses. The thesis uses this framework to justify the importance of microbiological vigilance and dynamic clinical reassessment in severe SARS-CoV-2 pneumonia.

The thesis then turns to the microbiological profile of pulmonary coinfections and superinfections in COVID-19, distinguishing carefully between early coinfection and later hospital-acquired superinfection. This distinction is shown to be essential because the pathogens and clinical implications differ according to timing. Early bacterial coinfection at admission is described as relatively uncommon, whereas superinfection developing after 48 hours of hospitalization is much more relevant, particularly in critically ill patients. The thesis reviews evidence showing that late respiratory infections are dominated by hospital-associated pathogens such as *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. It also addresses fungal disease, especially COVID-19-associated pulmonary aspergillosis, while recognizing that *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jirovecii*, and Mucorales may also be important in selected patients. The microbiological chapter does not remain purely descriptive; it emphasizes that pathogen identification is inseparable from interpretation of timing, host risk factors, diagnostic strategy, and local resistance ecology. This chapter is particularly valuable because it prepares the reader for the original studies by showing that pulmonary infections in COVID-19 are shaped by the convergence of biological vulnerability and hospital microbial ecology. Secondary infection is therefore presented as both a microbiological and a clinical problem.

Another important strength of the general part is the chapter devoted to diagnostic strategies, therapeutic principles, and antimicrobial stewardship. The thesis repeatedly stresses that worsening in severe COVID-19 should not automatically trigger uncritical escalation of antibacterial or antifungal therapy. Instead, it argues for a structured approach based on microbiological sampling, selective biomarker use, dynamic interpretation of inflammatory trends, and repeated reassessment of empirical treatment. Procalcitonin, C-reactive protein, lower respiratory tract cultures, blood cultures, bronchoalveolar lavage, rapid molecular diagnostics, galactomannan, PCR, and integrated fungal criteria are all discussed as tools that should refine clinical suspicion rather than replace microbiological

reasoning. The thesis also emphasizes the danger of widespread empirical antibiotic use during the pandemic, especially in the context of relatively low rates of proven bacterial coinfection at admission. This section is central to the thesis because it links the background science with clinical practice. It shows that outcomes in severe COVID-19 are influenced not only by which pathogens are present, but by how intelligently clinicians investigate them, how well they distinguish infection from inflammatory progression, and how consistently they apply stewardship principles. This creates a strong transition toward the special part, where the thesis tests these concepts in original patient cohorts.

The first original study examines fungal pulmonary coinfections in 280 adults hospitalized with RT-PCR-confirmed COVID-19, including 64 patients with laboratory-confirmed fungal infection and 216 patients without fungal involvement. The findings show that fungal disease was associated with a clearly more severe clinical phenotype. Patients with fungal infection had significantly higher inflammatory markers, including CRP, procalcitonin, white blood cell count, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and systemic immune-inflammation index, while serum albumin was lower. They also had worse severity scores, including higher APACHE II, CURB-65, and NEWS values, and they experienced more frequent ICU admission, greater need for mechanical ventilation, and longer hospitalization. Mortality also trended unfavorably.

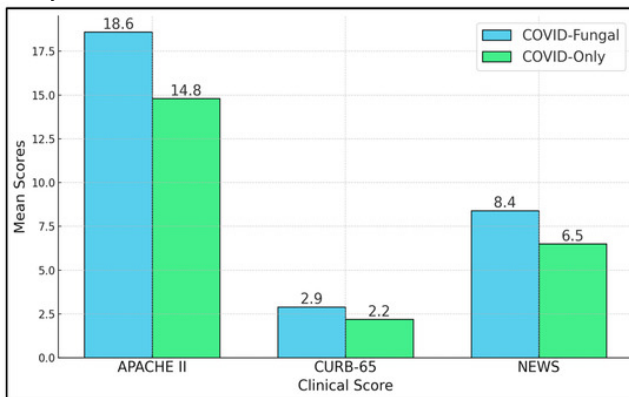


Figure 1 – Clinical severity scores.

Microbiologically, the fungal spectrum was broad and not limited to one pathogen, although *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* predominated. Other pathogens included non-albicans *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jirovecii*, and Mucorales. The study also demonstrated clinically meaningful antifungal resistance, with relevant azole resistance, echinocandin resistance, amphotericin B resistance, and multidrug resistance. Importantly, fungal coinfection and antifungal resistance independently predicted ICU admission in multivariable analysis. This study supports the conclusion that fungal pulmonary coinfection is not an incidental accompaniment to severe COVID-19, but a major aggravating factor associated with amplified inflammation, greater physiological instability, and a more complicated hospital course.

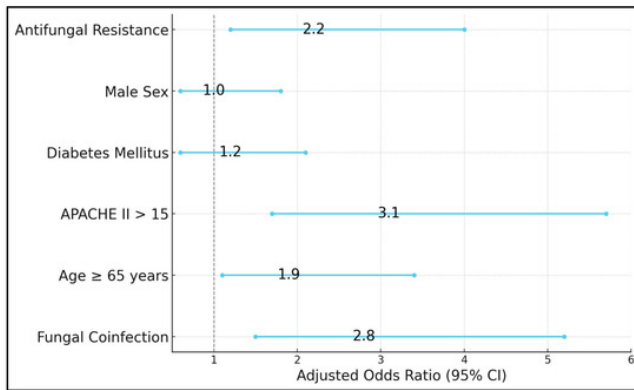


Figure 2 – Risk factor assessment for ICU admission in COVID-19 patients.

The second original study focuses on bacterial superinfection after SARS-CoV-2 pneumonia in a cohort of 141 hospitalized adults, 58 of whom developed secondary bacterial pneumonia while 83 remained without documented bacterial infection. This study shows that bacterial superinfection was associated with clearly worse inflammation, higher severity scores, and more demanding clinical outcomes. Compared with the COVID-only group, the superinfection cohort had significantly higher CRP, procalcitonin, white blood cell count, NLR, and SII, as well as lower albumin. Their APACHE II, CURB-65, and NEWS values were also higher, reflecting greater physiological compromise. Clinically, bacterial superinfection nearly doubled ICU admission, substantially increased mechanical ventilation, prolonged hospital stay, and was associated with an unfavorable mortality trend.

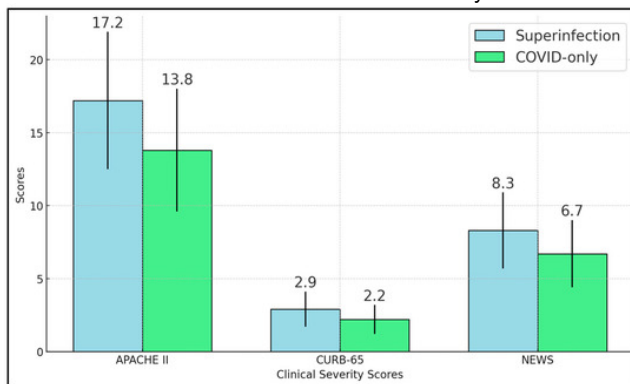


Figure 3 – Clinical severity scores in COVID-19.

The microbiological profile was dominated by hospital-associated respiratory pathogens, particularly *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* species, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*, with bacteremia present in a

meaningful subset. A major contribution of this study was its detailed resistance analysis. Approximately one-third of bacterial superinfections involved multidrug-resistant organisms, especially *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. Mortality was much higher in MDR than in non-MDR infections, and prior antibiotic exposure independently predicted MDR. This study therefore reinforces the thesis-wide argument that bacterial superinfection is a clinically major complication of COVID-19 and that resistance phenotype is not merely a laboratory feature, but a determinant of treatment complexity and prognosis.

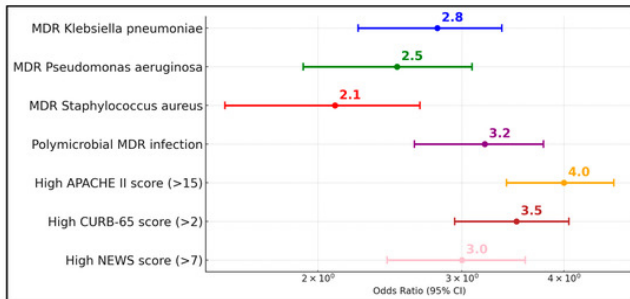


Figure 4 – Risk factor assessment for ICU admission.

The third original study expands the scope of the thesis by focusing on age-stratified respiratory and pleural bacterial infections in very old adults. It included 479 hospitalized adults with COVID-19, comparing 152 octogenarians aged 80 years or older with 327 younger adults under 65 years. This study showed that octogenarians had heavier comorbidity burden, more severe COVID-19 at baseline, higher ICU use, more oxygen and ventilation requirements, and markedly higher 28-day mortality. Secondary bacterial pneumonia, empyema, and bacteremia were also more frequent in the older group.

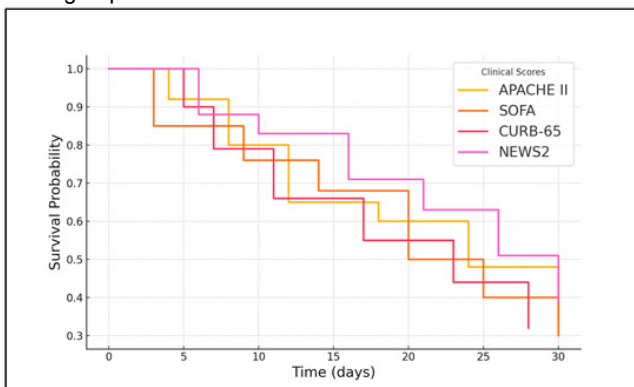


Figure 5 – Kaplan–Meier analysis for severe COVID-19 development in older adult patients.

One of the most important findings was that although older adults had more secondary infection and much worse outcomes, the respiratory pathogen spectrum was broadly similar between age groups. *Streptococcus pneumoniae*, MSSA, MRSA,

Klebsiella pneumoniae, ESBL-producing *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, and other Gram-negative bacilli dominated both strata, suggesting that excess risk in octogenarians was driven more by host vulnerability than by fundamentally different microbiology. The study also gave unusual and valuable attention to pleural infection, showing that empyema was more common in octogenarians and that pleural fluid cultures frequently yielded clinically significant pathogens. This geriatric perspective is a major strength of the thesis because it shows that the same secondary infections become much more consequential when they occur in a host with lower physiological reserve.

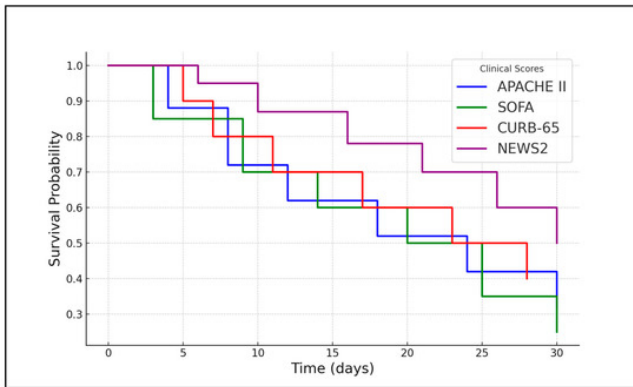


Figure 6 – Kaplan–Meier analysis for mortality in older adult patients over 80 years old after COVID-19.

A central result of the octogenarian study was the relationship between superimposed bacterial pneumonia and dynamic severity scoring. The study demonstrated that in patients aged 80 years or older, secondary pneumonia substantially increased day-5 SOFA and APACHE II values and was associated with dramatic rises in ICU admission and 28-day mortality. In octogenarians without superimposed pneumonia, ICU admission and mortality were relatively lower, but when pneumonia was present, ICU admission rose to more than half of patients and mortality exceeded one-third. The same direction of effect existed in younger adults, but the absolute burden was much greater in the elderly. Day-5 SOFA emerged as the strongest prognostic score in very old adults, outperforming simpler tools such as CURB-65 and NEWS2 for mortality discrimination. This finding is highly important because it shifts attention from admission-only assessment to dynamic hospital-course evaluation. The study demonstrates that evolving organ dysfunction, rather than static initial severity alone, best captures the clinical impact of secondary bacterial pneumonia in the elderly. It also translates microbiological findings into practical treatment implications, showing that narrower empiric regimens often lacked adequate coverage, whereas carbapenem-based regimens retained better activity against resistant Gram-negative pathogens.

Taken together, the three original studies form a highly coherent special part that validates the thesis hypothesis from several complementary angles. First, fungal pulmonary coinfection is shown to identify a more inflammatory and more severe COVID-19 phenotype. Second, bacterial superinfection is shown to amplify systemic inflammation, worsen severity scores, increase ICU use, and introduce substantial

multidrug resistance burden. Third, in octogenarians, secondary bacterial pneumonia is shown to interact with host frailty and evolving organ dysfunction to produce especially high absolute risks of ICU admission and death. Across all studies, a common pattern emerges: patients with secondary pulmonary infection are not merely culture-positive; they are consistently more unstable, more inflammatory, more resource-intensive, and at higher risk of poor outcomes. The thesis therefore succeeds in integrating microbiology, clinical severity, dynamic scoring, and stewardship into a single clinically meaningful model. Rather than presenting secondary pulmonary infection as a collection of isolated complications, it demonstrates that these infections reshape the entire prognostic landscape of hospitalized COVID-19. This makes the thesis both scientifically solid and clinically useful, especially for infectious diseases, pulmonology, intensive care, and geriatric care settings.

In conclusion, this thesis makes a substantial contribution to the understanding of complicated COVID-19 by showing that pulmonary secondary infections are among the most important determinants of worsening hospital course. The work demonstrates that fungal coinfections, bacterial superinfections, resistance patterns, pleural infection, and evolving organ dysfunction all have direct relevance to prognosis and management. It also emphasizes that microbiological confirmation should be pursued actively, that severity scoring should be interpreted dynamically, and that antimicrobial treatment must remain stewardship-guided even in critically ill populations. The thesis is particularly strong because it links broad pathophysiological reasoning with specific clinical datasets and because it includes a vulnerable geriatric subgroup often underrepresented in pandemic research. Its overall message is clear: severe COVID-19 cannot be understood adequately without accounting for the secondary pulmonary infections that complicate it. These infections intensify inflammation, worsen organ failure, prolong hospitalization, challenge empiric therapy, and markedly increase the burden on both patients and healthcare systems.