

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA**

MEMORIU ȘTIINȚIFIC

privind teza de doctorat intitulată

**„ BACTERIILE BIOFILM – FORMATOARE ÎN INFECȚIILE PLĂGILOR CRONICE
NEVINDECABILE:**

**STRATEGII DE OPTIMIZARE PRIVIND DIAGNOSTICUL MICROBIOLOGIC SI
MANAGEMENTUL REZISTENȚEI ANTIMICROBIENE”**

Student-doctorand: Mușuroi Silvia-Ioana
Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. Muntean Delia
Domeniul de doctorat: Medicină

1. Motivarea cercetării

Plăgile cronice nevindecabile reprezintă o problemă clinică importantă, caracterizată prin evoluție prelungită și dificultăți în controlul infecției. Spre deosebire de plăgile care parcurg etapele obișnuite ale reparării tisulare, acestea prezintă o vindecare întârziată și pot rămâne timp îndelungat într-o stare de inflamație persistentă. În general, o plagă este considerată cronică atunci când nu se vindecă în decurs de 4–6 săptămâni.

Printre cele mai frecvente tipuri se numără ulcerele piciorului diabetic, ulcerele venoase și leziunile de presiune. Întârzierea vindecării este asociată cu mai mulți factori, între care hipoxia tisulară locală, episoadele repetate de ischemie și reperfuzie, alterarea răspunsului celular și sistemic la stres și prezența microorganismelor în plagă. Plăgile postoperatorii și cele produse prin arsuri pot avea, la rândul lor, o evoluție prelungită, influențată și boala de bază, de amploarea intervenției chirurgicale, respectiv de suprafața și profunzimea arsurii.

Biofilmele sunt identificate frecvent în plăgile cronice nevindecabile, unele studii raportând prezența lor în peste 80% dintre cazuri. Aceste comunități microbiene sunt adesea polimicrobiene și pot include diferite specii bacteriene, uneori asociate cu fungi. Organizarea microorganismelor în biofilm, împreună cu rezistența lor la antimicrobiene, poate îngreuna controlul infecției.

În acest context, alegerea temei a fost motivată de necesitatea unei mai bune înțelegeri particularităților microbiologice ale plăgilor cronice nevindecabile, prin studierea genelor de rezistență la antimicrobiene, a fenotipurilor de rezistență și a capacității izolatelor bacteriene de a forma biofilm, precum și prin analiza unor posibile asocieri dintre acești factori. Această abordare poate contribui la o înțelegere mai bună a mecanismelor microbiologice implicate în

persistența infecției și întârzierea vindecării și poate sprijini alegerea unor strategii terapeutice adaptate.

Actualitatea temei este susținută de dificultățile persistente întâmpinate în tratamentul plăgilor cronice complicate de infecție, de numărul mare de zile de internare și costurile ridicate ale asistenței medicale. Cunoașterea microbiologiei plăgilor și a caracteristicilor genotipice și fenotipice ale tulpinilor poate contribui la înțelegerea factorilor asociați cu evoluția nefavorabilă a leziunilor și la realizarea unor strategii de diagnostic și de tratament adaptate.

Cercetarea, în ansamblul ei a avut ca obiectivul general caracterizarea infecțiilor și a rezistenței la antimicrobiene în contexte clinice succesive: la pacienții cu infecții dobândite în comunitate, internați prin Departamentul de Urgență (DU); la pacienții spitalizați în Unitatea Funcțională de Arși (UFA); și la pacienții cu plăgi cronice nevindecabile. Cele trei studii au pornit de la descrierea etiologiei și a profilurilor de rezistență, au continuat cu analiza evoluției infecțiilor la pacienții cu arsuri și au aprofundat, în final, relația dintre genele de rezistență, fenotipurile de rezistență și formarea biofilmului în izolatele din plăgi cronice. Scopul comun a fost obținerea unor date care să sprijine diagnosticul microbiologic și alegerea unor strategii terapeutice adaptate contextului clinic.

2. Lista lucrărilor care fac parte integrantă din teza de doctorat

1. **Musuroi, S.I.**; Voinescu, A.; Musuroi, C.; Muntean, D.; Horhat, F.G.; Baditoiu, L.M.; Izmendi, O.; Cosnita, A.; Ordodi, V.; Crainiceanu, Z.; et al. Epidemiological Study of the Relationship Between Antimicrobial Resistance Genes and Biofilm-Forming Capacity in Pathogens Causing Chronic Wound Infections. *Microorganisms***2026**, *14*, 1117. I.F 4.2, (Q2) <https://doi.org/10.3390/microorganisms14051117>,
2. **Musuroi, S.I.**; Voinescu, A.; Musuroi, C.; Baditoiu, L.M.; Muntean, D.; Izmendi, O.; Jumanca, R.; Licker, M. The Challenges of The Diagnostic and Therapeutic Approach of Patients with Infectious Pathology in Emergency Medicine. *J. Pers. Med.***2024**, *14*, 46. I.F (3) (Q2). <https://doi.org/10.3390/jpm14010046>,
3. Musuroi C, **Musuroi S.I.***, Baditoiu L, Crainiceanu Z, Muntean D, Voinescu A, Izmendi O, Sirmon A, Licker M. The Profile of Bacterial Infections in a Burn Unit during and after the COVID-19 Pandemic Period. *Antibiotics*. **2024**; *13*(9):823. I.F 4,3 (Q1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090823> .

3. Date privind evoluția cercetării și diseminarea rezultatelor

Etapa I – Studiul patologiei infecțioase în medicina de urgență

Primul studiu a urmărit evaluarea etiologiei infecțiilor dobândite în comunitate și a profilurilor de rezistență la antimicrobiene ale microorganismelor identificate la pacienții internați prin Departamentul de Urgență (DU) al celui mai mare spital de urgență din vestul țării. Au fost analizate caracteristicile epidemiologice și clinice ale pacienților, cu scopul de a furniza

date utile pentru alegerea tratamentului antimicrobian. Un interes deosebit l-au prezentat infecțiile plăgilor pentru care pacienții s-au adresat DU, acestea constituind o legătură cu celelalte direcții ale cercetării.

Includerea unui număr mare de pacienți proveniți din comunitate a permis descrierea caracteristicilor demografice, a comorbidităților și a distribuției pe secții de internare, în raport cu profilul medical sau chirurgical al patologiei infecțioase. Astfel, rezistența la antimicrobiene a putut fi analizată în contextul clinic al pacienților evaluați în DU și ulterior internați. Studiul s-a desfășurat în perioada pandemiei de COVID-19, când restricțiile de acces la serviciile medicale ar fi putut influența adresabilitatea și structura pacienților incluși.

Rezultatele au evidențiat o pondere importantă a pacienților cu diagnostic infecțios dintre cei internați prin DU. Aceștia erau frecvent vârstnici, prezentau comorbidități și au fost internați mai ales în secții cu profil chirurgical. În lotul studiat, bărbații au necesitat internare la vârste mai mici decât femeile. Dintre microorganismele identificate au predominat bacteriile Gram-negative. *Escherichia coli* a fost specia izolată cel mai frecvent și a prezentat, în general, sensibilitate la antibioticele uzuale. Bacteriile Gram-negative nefermentative au fost izolate mai rar, dar au prezentat niveluri mai ridicate de rezistență. În cazul izolatelor de *Staphylococcus aureus*, s-a remarcat proporția tulpinilor MRSA identificate la pacienți cu infecții dobândite în comunitate.

Aceste rezultate susțin necesitatea monitorizării periodice a rezistenței la antimicrobiene în rândul izolatelor provenite de la pacienții evaluați în DU. Utilizarea metodelor rapide de diagnostic microbiologic ar putea facilita identificarea timpurie a patogenilor și ajustarea tratamentului. Totodată, datele obținute pot contribui la actualizarea protocoalelor terapeutice și la dezvoltarea programelor de stewardship antimicrobian în medicina de urgență, pentru o utilizare mai judicioasă a antibioticelor.

Etapa a II-a – Studiul profilului infecțiilor bacteriene într-o unitate de arși în timpul și după perioada pandemiei covid-19

Al doilea studiu a analizat profilul infecțiilor la pacienții internați în Unitatea Funcțională Arși (UFA) a Spitalului Clinic Județean de Urgență „Pius Brînzeu” Timișoara. Cercetarea a fost unicentrică, observațională, retrospectivă și comparativă și a inclus perioade corespunzătoare din anii 2020 și 2023. Compararea acestor intervale a permis examinarea diferențelor dintre perioada de debut a pandemiei de COVID-19 în România și o perioadă ulterioară acesteia, fără a atribui pandemiei eventualele modificări observate.

Au fost analizate caracteristicile demografice ale pacienților, durata spitalizării și evoluția la externare. Studiul a urmărit, de asemenea, distribuția microorganismelor identificate, profilurile lor de rezistență la antimicrobiene și factorii asociați cu evoluția nefavorabilă.

Distribuția speciilor bacteriene a fost comparabilă între cele două loturi. În ambele perioade s-a remarcat ponderea bacteriilor Gram-negative nefermentative, relevante pentru pacienții cu arsuri prin potențialul de a persista în plăgi și de a produce infecții severe. În 2023,

creșterea rezistenței la antimicrobiene față de 2020 a fost evidențiată în special la izolatele de *Pseudomonas* spp. și *Klebsiella* spp.; unele izolate de *Klebsiella* spp. au prezentat rezistență la majoritatea antibioticelor testate. Analiza factorilor predictivi a identificat vârsta, suprafața corporală arsă, necesitatea ventilației mecanice, hemodializa și infecția cu *Acinetobacter* spp. drept predictorii independenți ai evoluției nefavorabile.

Rezultatele atrag atenția și asupra rolului posibil al biofilmului în plăgile arse profunde. Necroza tisulară, hipoxia locală și exudatul pot favoriza dezvoltarea comunităților microbiene, iar speciile identificate în studiu includ bacterii cunoscute pentru capacitatea lor de a forma biofilm. Întrucât formarea biofilmului nu a fost evaluată direct în acest studiu, contribuția sa la persistența infecției rămâne o posibilă explicație biologică, nu o concluzie demonstrată de rezultatele obținute. Aceste observații susțin importanța unei abordări terapeutice care să îmbine antibioterapia ghidată de rezultatele microbiologice cu îngrijirea locală adecvată a plăgii, inclusiv debridarea țesutului devitalizat și utilizarea pansamentelor potrivite.

Etapa III-a - Studiu epidemiologic al relației dintre genele de rezistență antimicrobiană și capacitatea de formare a biofilmului la agenții patogeni care cauzează infecții cronice ale rănilor

Cel de-al treilea studiu a urmărit caracterizarea microbiologică a bacteriilor izolate din plăgi cronice nevindecabile, prin analiza genelor de rezistență la antimicrobiene, a fenotipurilor de rezistență și a capacității de formare a biofilmului. Cercetarea a fost unicentrică, observațională, prospectivă, analitică și transversală. Probele au fost colectate în perioada noiembrie 2023 – mai 2024 de la pacienți internați în secțiile de Chirurgie vasculară și Chirurgie plastică ale Spitalului Clinic Județean de Urgență „Pius Brînzeu” Timișoara,

Studiul a inclus izolate aparținând speciilor *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii* și *Staphylococcus aureus*. Pentru acestea au fost evaluate susceptibilitatea la antimicrobiene și fenotipurile de rezistență, prezența genelor de rezistență incluse în panelul molecular și capacitatea de formare a biofilmului. Au fost analizate asocierile dintre portajul genelor investigate și formarea biofilmului. În plus, răspunsul bacteriilor la meropenem și amikacină în stare planctonică a fost comparat cu răspunsul lor în biofilm, evaluat cu ajutorul dispozitivului Calgary. Această abordare a permis examinarea unor aspecte ale rezistenței care nu sunt surprinse integral prin testarea convențională a susceptibilității.

Rezultatele au evidențiat predominanța bacteriilor Gram-negative și frecvența ridicată a fenotipurilor de multirezistență (MDR) și rezistență extinsă (XDR), în special în cazul *K. pneumoniae* și *A. baumannii*. Izolatele de *A. baumannii* au prezentat un profil de rezistență deosebit de nefavorabil, fiind predominant XDR și rezistente la carbapeneme. La *K. pneumoniae* s-au observat frecvent fenotipuri asociate producerii de beta-lactamaze cu spectru extins și rezistență la carbapeneme, iar *P. aeruginosa* a inclus o proporție importantă de izolate MDR. În

cea ce privește biofilmul, *P. aeruginosa* și *A. baumannii* s-au remarcat prin capacitatea crescută de formare a acestuia.

Analiza moleculară a arătat că peste 90% dintre izolatele de *K. pneumoniae* au prezentat cel puțin una dintre genele de rezistență investigate. Au fost identificate inclusiv gene asociate rezistenței la carbapeneme, precum *blaNDM* și *blaOXA-48*, prezente concomitent la peste 40% dintre izolatele acestei specii. Jumătate dintre izolatele de *P. aeruginosa* au fost purtătoare a cel puțin unei gene din panelul studiat. Gene de rezistență au fost identificate și la o proporție importantă dintre izolatele de *P. mirabilis*, precum și la toate izolatele de *A. baumannii*, în cazul cărora au predominat *blaTEM* și *blaOXA-23*. Dintre izolatele de *S. aureus*, aproape 60% au prezentat cel puțin o genă de rezistență, *mecA* având o pondere importantă. Aceste rezultate au completat caracterizarea fenotipică a izolatelor, evidențiind totodată limitele inerente unui panel molecular selectat. Între prezența genelor de rezistență investigate și capacitatea de formare a biofilmului a fost identificată o asociere pozitivă, puternică și semnificativă statistic pentru izolatele de *K. pneumoniae* și *P. mirabilis*. Asocierea observată nu demonstrează însă că genele de rezistență determină formarea biofilmului sau că acestea sunt transferate împreună cu determinanții genetici ai biofilmului. Clarificarea mecanismelor care ar putea explica această relație necesită investigații suplimentare.

Compararea susceptibilității în cele două stări de creștere a arătat că valorile BMIC₅₀ au fost semnificativ mai mari decât valorile MIC pentru combinațiile specie-antibiotic investigate, cu excepția *A. baumannii*-amikacină. Rezultatele indică un răspuns redus la antibioticele testate în starea de biofilm. Totuși, în absența unor valori-prag standardizate pentru BMIC₅₀, aceste rezultate nu permit încadrarea convențională a biofilmului în categoriile „sensibil” sau „rezistent”.

În ansamblu, studiul evidențiază coexistența frecventă a rezistenței antimicrobiene și a formării biofilmului la bacteriile izolate din plăgile cronice analizate. Constatările susțin o abordare terapeutică individualizată, care să coreleze rezultatele microbiologice cu evaluarea clinică a plăgii și să includă, după caz, antibioterapie ghidată și măsuri locale de control al infecției, precum debridarea țesutului devitalizat.

Diseminarea rezultatelor:

Rezultatele cercetărilor din cele 3 etape ale tezei de doctorat au fost publicate în reviste indexate ISI. Doua dintre aceste reviste sunt încadrate Q2 iar cea de a treia revistă este încadrată Q1, fapt ce evidențiază vizibilitatea și relevanța rezultatelor studiilor precum și recunoașterea calității și originalității lor.

4. Aprecierea conducătorului de doctorat privind datele științifice din teza coordonată

În ansamblu, rezultatele tezei evidențiază valoarea unei abordări integrate a infecțiilor asociate plăgilor. Cercetarea reunește date epidemiologice și clinice cu analiza fenotipurilor de rezistență, a genelor investigate și a capacității bacteriilor de a forma biofilm, oferind o

caracterizare mai cuprinzătoare a izolatelor decât cea bazată exclusiv pe identificarea speciei și pe antibiogramă.

Studiul comparativ realizat în unitatea de arși aduce informații utile despre profilul microbiologic și rezistența la antimicrobiene în perioadele analizate din 2020 și 2023. Prin identificarea modificărilor observate și a factorilor asociați cu evoluția nefavorabilă, rezultatele plasează datele microbiologice în contextul clinic al pacienților cu arsuri.

O contribuție importantă a tezei o reprezintă caracterizarea izolatelor din plăgile cronice nevindecabile. Analiza speciilor *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *P. mirabilis* și *S. aureus* a evidențiat frecvența fenotipurilor de rezistență și a genelor investigate, precum și capacitatea unor izolate de a forma biofilm. Asocierile identificate pentru anumite specii între portajul genelor de rezistență și formarea biofilmului constituie un rezultat relevant, care justifică aprofundarea mecanismelor implicate, fără a demonstra prin el însuși o relație cauzală.

Compararea valorilor MIC cu BMIC₅₀ adaugă o dimensiune experimentală importantă: pentru majoritatea combinațiilor investigate, răspunsul la antibiotice a fost redus în starea de biofilm. Acest rezultat arată utilitatea evaluării biofilmului în cercetarea plăgilor cronice, deși valorile BMIC₅₀ nu pot fi interpretate clinic după aceleași praguri utilizate pentru MIC.

Rezultatele oferă, totodată, o bază pentru activități ulterioare. Investigarea genelor implicate în adeziune, producerea matricei extracelulare și reglarea biofilmului ar putea clarifica relația observată între rezistență și capacitatea de formare a biofilmului. De asemenea, se subliniază necesitatea fundamentării unor strategii care combină tratamentul antimicrobian ghidat cu măsuri locale de îndepărtare și control al biofilmului. Integrarea metodelor moleculare rapide în fluxul clinic reprezintă o altă direcție de interes, prin potențialul lor de a furniza mai devreme informații despre agenții patogeni și genele de rezistență.

Consider că datele științifice prezentate sunt relevante și valoroase, fiind obținute printr-o abordare metodologică riguroasă și analizate într-o manieră coerentă. Rezultatele susțin concluziile formulate și evidențiază contribuția proprie a autorului la cunoașterea domeniului studiat. În ansamblu, apreciez că teza îndeplinește cerințele de rigoare științifică și originalitate necesare acordării titlului de doctor.

Conducător de doctorat,

Prof. Univ. Dr. Muntean Delia

Semnătura: DM

Data: 23.09.2026

Student doctorand,

As. Univ. Dr. Mușuroi Silvia-Ioana

Semnătura: SI

Data: 23.09.2026