

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL VIII- MEDICINĂ LEGALĂ, BIOETICĂ,
DEONTOLOGIE ȘI DREPT MEDICAL**

CUȚ TALIDA GEORGIANA



TEZĂ DE DOCTORAT

**BIOMARKERI CU ROL PREDICTIV ÎN INFECȚIA CU
SARS-CoV-2. ASPECTE CLINICE ȘI MEDICO-LEGALE**

– R E Z U M A T –

Coordonator științific
PROF. UNIV. DR. ENACHE ALEXANDRA

**Timișoara
2023**

Secțiunea teoretică a acestei teze de doctorat este centrată pe explorarea mecanismelor fiziopatologice în COVID-19, a complicațiilor, și a biomarkerilor semnificativi, care ulterior sunt detaliate în partea specială. Pentru a realiza acest obiectiv, s-a fost efectuată o revizuire amplă a literaturii de specialitate, cu accent pe mecanismele mediate imun în COVID-19, efectul direct al virusului SARS-CoV-2 asupra țesuturilor și biomarkerii disponibili în prezent pentru detectarea virală, evaluarea clinică și evaluarea post-mortem.

Partea specială urmărește identificarea potențialilor biomarkeri cu rol prognostic în diferite stadii din COVID-19 și include informații despre potențialele implicații post-mortem, precum și aspecte histopatologice cheie în fiecare sistem de organe cauzate de infecția cu SARS-CoV-2. Un alt element crucial al acestei disertații include investigarea și furnizarea de date relevante cu privire la co-infecțiile și suprainfecțiile emergente în COVID-19, definind în același timp noi direcții de cercetare.

Această teză de doctorat își propune să integreze datele clinice, histologice și de laborator, cu monitorizarea tendințelor mai degrabă decât o singură valoare, îmbunătățind astfel managementul clinic al pacientului cu COVID-19. Răspândirea globală a virusului SARS-CoV-2 a cufundat societatea noastră modernă într-o criză economică și de asistență medicală. La aproape patru ani de pandemie, multipli factori privind progresia bolii și complicațiile acesteia, rămân neelucidați, ridicând astfel întrebări importante pentru a motiva cercetările ulterioare.

Utilizarea restrânsă a biomarkerilor în contextul examinărilor post-mortem, discrepanțele în datele raportate anterior în literatura de specialitate și absenței studiilor de validare externă, împreună cu potențialul și implicațiile biologice promițătoare observate pentru anumite molecule specifice, a dat naștere acestei inițiative de cercetare.

Populația globală de studiu a tezei actuale este compusă din 507 cazuri de COVID-19 din 2020-2022 împărțite în:

- 418 cazuri gestionate la Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie și Boli Infecțioase Victor Babeș Timișoara, în cadrul Secției Boli Infecțioase II;
- 89 de cazuri de autopsiate în cadrul Institutul de Medicină Legală Timișoara.

Populația globală studiată a fost evaluată prin RT-PCR pentru SARS-CoV-2 ARN și doar cazurile cu un test molecular pozitiv au fost incluse în continuare în studii. Pentru cazurile gestionate în Compartimentul de Boli Infecțioase, tratamentul a fost efectuat în conformitate cu ghidurile COVID-19 ale Ministerului Sănătății din România, publicate și implementate la momentul spitalizării pacienților. În funcție de severitatea bolii, pacienților li s-a administrat terapie antivirală (remdesivir sau favipiravir), antagoniști ai receptorilor de

interleukină-1, anticorpi monoclonali umanizați împotriva receptorului de interleukină-6, tratament corticoterapic cu dexametazonă sau metilprednisolon, heparină cu greutate moleculară mică, antibiotice cu spectru larg, inhibitori ai pompei de protoni, antitusive și antipiretice la nevoie.

Potrivit Institutului Național de Sănătate Publică din România, criteriile clinice includ prezența a cel puțin unuia dintre următoarele semne sau simptome: tuse, febră, dificultăți de respirație, debut brusc cu anosmie, ageuzie sau disgeuzie, la copii – prezența simptomatologiei gastrointestinale (vărsături și tranzit intestinal accelerat), semne radiologice de leziunilor compatibile cu COVID-19 și criterii epidemiologice care includ cel puțin unul dintre următoarele:

- contact direct cu un caz confirmat de COVID-19, cu 14 zile înainte de data apariției simptomatologiei;
- rezidenți sau membri ai personalului din instituțiile care îngrijesc o populație vulnerabilă, cu 14 zile înainte de data declanșării, sau instituții cu transmitere confirmată a SARS-CoV-2.

La evaluarea inițială a cazurilor de COVID-19, prezența a cel puțin unuia dintre următorii factori de risc a fost considerată un motiv suficient de spitalizare: vârsta ≥ 60 de ani, boli cardiovasculare, boală pulmonară obstructivă cronică, astm, emfizem, diabet, malignitate, obezitate (indicele de masă corporală ≥ 30 kg/m²), boală cronică de rinichi, imunosupresie (transplant de organe solide, beneficiar al terapiei imunosupresoare, HIV/SIDA), sarcină, dispnee sau frecvență respiratorie crescută (≥ 30 respirații pe minut), saturație spontană de oxigen $\leq 94\%$ (în aerul ambiental) sau o scădere a saturației la $< 90\%$ (care necesită suplimentarea cu oxigen), limfopenie $< 1000/\text{mm}^3$, D-dimer > 250 ng/mL și PCR > 10 mg/L.

Pentru toate cazurile care au îndeplinit criteriile de includere în studiul, s-au cules seturi complete de date, concentrându-se pe variabilele considerate relevante pentru prelucrarea statistică ulterioară.

În funcție de forma clinică a infecției și urmând definițiile din ghidul de monitorizare și tratament COVID-19, publicat de către Administrația de Sănătate Publică din România, pacienții au fost clasificați astfel: pacienți cu o formă ușoară a bolii, pacienți cu o formă moderată a bolii și pacienți cu semne de pneumonie severă.

Cazurile gestionate la Institutul de Medicină Legală Timișoara au fost împărțite în două studii astfel:

- Studiul I, unde au fost incluși în total 45 de subiecți COVID-19 pozitivi (Grupul 1). Toți subiecții au murit în afara unui cadru spitalicesc și, prin urmare, nu au primit terapii specifice sau simptomatice care ar fi putut modula răspunsul inflamator. Ca martori (Grupul 2), am selectat un total de 20 de subiecți care au murit din cauza poli traumatismelor în accidente de mașină de mare viteză (n=10) și sinucidere (sărituri de la înălțime n=5, spânzurare n=4, intoxicație n=1). Criteriile de excludere a cazurilor au fost prezența unor boli pulmonare infecțioase cunoscute, concomitente (de exemplu antecedente de tuberculoză pulmonară sau TBC activ).

Scopul acestui studiu a fost de a rezuma constatările histopatologice cheie din fiecare sistem de organe datorate COVID-19 și de a evalua dacă biomarkeri serologici ieftini și disponibili pe scară largă, cum ar fi PCR, IL-6, fibrinogenul și d-Dimerii, asociați cu prognostic nefavorabil în COVID-19, pot fi implementați într-o evaluare post-mortem.

- Studiul II a fost realizat pe 61 de cazuri de autopsie și a avut ca scop analiza expresiei microARN-urilor din cazuri postmortem pozitive și negative de SARS-CoV-2. După ce a fost efectuată analiza moleculară post-mortem, 44 de cazuri au fost testate pozitiv pentru infecția cu SARS-CoV-2 (Grupul 1), iar restul de 17 cazuri negative au fost considerate grupul de control (Grupul 2). Studiul a fost realizat între 1 septembrie 2020 și 31 martie 2021, iar criteriul de excludere a cazurilor a fost aspectul normal al plămânilor la examenul macroscopic.

Studiul III este o serie retrospectivă de cazuri, care descrie evoluția a 11 pacienți cu COVID-19 din toate cele 1648 de cazuri internate la Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie și Boli Infecțioase Victor Babeș Timișoara, din cadrul Compartimentului de Boli Infecțioase, în cel de al doilea val de COVID-19 (de la 1 octombrie 2020 până la 31 ianuarie 2021).

Infecțiile diagnosticate în decurs de 48 de ore de la internarea în spital au fost clasificate drept coinfecții. Infecțiile identificate după 48 de ore de la internare au fost clasificate ca suprainfecții. Probele biologice pentru diagnosticul de coinfecție/suprainfecție la pacienții cu COVID-19 din Studiul IV, au fost recoltate după evaluarea următoarelor criterii:

- criterii clinice: spută purulentă, febră persistentă ($>38^{\circ}\text{C}$), deteriorarea parametrilor ventilatori, sau instabilitate hemodinamică.

- criterii de laborator: agravarea leucocitozei sau leucopeniei, creșterea procalcitoninei sau a proteinei C reactivă.

- criterii radiologice: progresia/gravarea modelului radiologic toracic sau debutul unui model caracteristic pneumoniei bacteriene, cum ar fi consolidarea bazală, nodulii, cavitația sau revărsatul pleural.

Sputa expectorată a fost selectată ca tehnică de prelevare. Au fost efectuate investigații microbiologice de rutină la laboratorul de microbiologie medicală al Spitalului Clinic de Pneumoftiziologie și Boli Infecțioase Victor Babeș Timișoara, folosind tehnici de bacteriologie standard. Toate izolatele au fost identificate mai întâi folosind cardurile de identitate VITEK® 2 GN, VITEK® 2 GP (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Franța). Testele de susceptibilitate anti microbiană au fost efectuate folosind cardurile VITEK 2 GN AST-N222 și VITEK 2 AST GP 67 (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Franța).

Pentru Studiul I, nivelurile de PCR, IL-6, fibrinogen și d-Dimeri din probele de plasmă postmortem au fost semnificativ mai mari la subiecții cu COVID-19 decât în grupul de control ($p < 0.0001$). Nivelul IL-6 a fost semnificativ mai mare la pacienții supraponderali ($r = 0.52$, $P < 0.001$). Nu s-au găsit corelații pozitive semnificative între nivelul plasmatic de IL-6 și alți parametri inflamatori: CRP ($r = 0.22$, $P = 0.14$), d-Dimeri ($r = 0.023$, $P = 0.88$), fibrinogen ($r = 0.119$, $P = 0.435$). La examinarea microscopică a grupului cu COVID-19, plămânii tuturor subiecților au fost grei, congestionați, cu lichid de edem abundent cu implicare neregulată. În toate cazurile din Grupul I, examenul histopatologic a evidențiat trăsături corespunzătoare fazelor exudative și/sau proliferative ale leziunii alveolare difuze. Dintre aceștia, 32 se aflau într-o fază de organizare acută și 13 au prezentat o organizare mai extinsă.

Pentru Studiul II, rezultatele noastre arată că atât grupul COVID-19, cât și grupul de control s-au corelat pentru vârstă și sex (testul Shapiro-Wilk; $p = 0.505$). Vârsta medie pentru pacienții infectați cu SARS-CoV-2 a fost de $58,5 \pm 18,72$ (cu intervalul între 29 și 91 de ani), iar pentru grupul de control a fost de $52 \pm 17,49$ (cu intervalul între 25 și 83 de ani). În populația studiată și martori, 23/44 (52,7%) și, respectiv, 9/17 (52,9%) au fost bărbați. Analiza ROC a relevat puterea celor 3 microARN-uri ca biomarker predictiv în cazurile confirmate postmortem de SARS-CoV-2, cu aria de sub curbă (AUC) după cum urmează: microARN-6501-5p = 0.762; microARN-5695 = 0.837 și microARN-29b-3p = 0.855. Valoarea combinată AUC a fost de 0.985, o valoare mult mai mare decât fiecare microARN individual, dovedind astfel puterea discriminatorie mai mare.

Studiul III, a urmărit evoluția a 11 pacienți cu COVID-19, nouă bărbați și două femei, cu vârsta cuprinsă între 36 și 78 de ani, vârsta medie $58,27 \pm 12,39$ ani, internați după două până la șapte zile, mediană 4,8 (2–7) zile, de la debutul simptomelor infecției cu SARS-CoV-2, diagnosticul fiind confirmat de RT-PCR. După 1 până la 15 zile de spitalizare, cu o medie de 4.45 (2-6) zile, toți subiecții au dezvoltat cel puțin una dintre următoarele complicații: PT, PM, PP și ES. Opt pacienți au murit după 12 până la 40 de zile, în medie 23,5 (14–33,75) zile de spitalizare, cu un interval median de 19,5 (9,25–25,5) zile după apariția scurgerii de aer. Restul de trei, cu leziuni pulmonare reduse la internare, nu au necesitat drenaj

chirurgical și au fost externați în stare clinică bună după o ședere medie în spital de 7 (2-7) zile.

Pentru cel de-al patrulea studiu al acestei inițiative de cercetare, a decelat 46 de persoane cu o cultură din spută pozitivă pentru bacterii patogene, 67 de pacienți cu culturi de spută pozitive pentru bacterii comensale asociate țesutului respirator, 51 de cazuri identificate cu creșterea fungică în culturile lor de spută și 243 de pacienți cu culturi negative. S-a observat că majoritatea pacienților erau persoane în vârstă de peste 65 de ani, dintre care peste 52% erau bărbați. S-a observat că pacienții cu infecții fungice au avut o durată medie semnificativ mai scurtă de la debutul simptomelor până la spitalizare (4,7 zile), comparativ cu 6,1 zile la pacienții cu bacterii patogene identificate în probele de spută, 5,9 zile la cei cu infecții cu flora comensală și 6,8 zile în grupul de control ($p < 0,001$). Cu toate acestea, timpul scurs de la primul test PCR COVID-19 pozitiv până la spitalizare a fost de aproximativ 4 zile, fără diferențe semnificative între grupuri ($p > 0,05$). Majoritatea probelor de spută au fost prelevate în decurs de 48 de ore de la internarea și mai mult de 80% din totalul probele pozitive au prezentat multirezistență antimicrobiană.

Identificarea agenților dintre probele de spută a fost clasificată după bacterii patogene pentru tractul respirator, agenți comensali ai tractului respirator și infecții fungice ale tractului respirator. În total, 31,5% dintre probe au fost pozitive pentru *Pseudomonas aeruginosa*, urmate de 26,2% cu co-infecții cu *Klebsiella pneumoniae*, în rândul pacienților internați cu COVID-19. A treia cea mai frecventă bacterie patogenă identificată în probele de spută a fost *Escherichia coli*, urmată de alți bacili Gram negativi și *Acinetobacter baumannii* în 9,3% din probe.

Agenții comensali au cauzat infecții respiratorii la 67 de pacienți cu COVID-19, cel mai răspândit fiind *Streptococcus pneumoniae* la 34,1% dintre pacienți, urmat de *Staphylococcus aureus* sensibil la meticilină (21,6%) și rezistent la meticilină (17,0%). Probele de spută rămase au fost confirmate pentru *Moraxella catarrhalis* în 9,1% din cazuri și *Haemophilus influenzae* în procent de 6,5%. În cazul infecțiilor fungice în rândul pacienților cu COVID-19 necritici internați în Departamentul de Boli Infecțioase, *Candida spp* a reprezentat o majoritate de 53,4% din probele pozitive, urmată de *Aspergillus spp.* în proporție de 41,1%.

Markerii inflamatori au fost semnificativ diferiți statistic între cele patru grupuri de studiu. Au fost observate niveluri ridicate de procalcitonină în rândul pacienților cu bacterii patogene și coinfecții respiratorii ale florei comensale (60,9% și, respectiv, 61,2% din probe în afara intervalului normal), în timp ce IL-6, VSH și PCR au fost la fel de crescute în cele trei grupuri cu probe pozitive comparativ cu grupul martor ($p < 0.05$).

Cele trei loturi cu creștere microbiană pozitivă au avut o distribuție proporțională a pacienților internați în UTI, cu o medie de 30% dintre aceștia fiind internați, comparativ cu doar 17,3% în rândul pacienților spitalizați cu COVID-19 cu culturi negative de spută ($p = 0,003$). În consecință, durata spitalizării, șederea în UTI și mortalitatea a fost mult mai mare în aceste trei grupuri decât la pacienții cu probe negative.

De când a început pandemia, România a traversat mai multe valuri de infecție cu SARS-CoV-2, caracterizate prin oscilații zilnice ale numărului de cazuri, cu vârfuri și minime ale ratelor de transmitere. Sistemul de sănătate a fost tensionat cu un număr considerabil de internări în spitale și decese. Tendințele mortalității nu au rămas statice, înregistrând creșteri în perioadele de transmitere sporită.

Grupurile vulnerabile, cum ar fi cetățenii în vârstă și persoanele cu afecțiuni preexistente precum hipertensiunea arterială, diabetul și bolile cardiovasculare, au fost afectate în mod disproporționat.

Examinarea situației din România, în special în cadrul COVID-19, are importanță din numeroase motive. O înțelegere cuprinzătoare a peisajului COVID-19 din România poate îmbogăți strategia de sănătate publică, poate oferi date valoroase despre transmiterea virală, poate evalua eficacitatea tratamentului, poate măsura rezistența sistemului de sănătate și permite o revizuire aprofundată a impactului acestuia asupra grupurilor expuse riscului. Acest lucru este deosebit de relevant, având în vedere îmbătrânirea populației și minoritățile populaționale precum românii, care pot fi deosebit de vulnerabile.

Rata mondială de mortalitate pentru COVID-19 în 2021 a fost de 2%, cu 0,06% din cazurile severe, iar studiile inițiale pe autopsii, documentează insuficiența respiratorie din SDRA ca fiind cauza predominantă de deces, însoțită frecvent de microtromboză capilară, bronhopneumonie suprapusă și tromboembolism pulmonar.

România a înregistrat, în octombrie 2021, cu 110% mai multe decese decât media lunilor octombrie din anii premergătoare pandemiei, respectiv 2017–2019. Este cea mai mare proporție de exces de mortalitate pe întreaga perioadă a pandemiei, din Uniunea Europeană.

Investigațiile serologice postmortem efectuate în cadrul studiului nostru au relevat o expresie serică mai mare a IL-6 pentru grupul COVID-19, totuși această diferență nu reflectă magnitudinea și durata semnalizării mediate de IL-6, care depinde de interacțiunea complexă a receptorilor IL-6 legați de membrană (semnalizare cis, clasic antiinflamatoare) și a receptorilor IL-6 solubili (semnalizare trans, proinflamatoare), precum și de inhibitorii solubili.

Studiile postmortem sunt predispuse la limitări, cea mai importantă dintre acestea constând în incapacitatea de a evalua dinamica bolii, deoarece evaluarea are loc la sfârșitul cursului bolii. Studiul I este limitat datorită dimensiunii mici a eșantionului și distribuției populației. Nu au fost disponibile înregistrări medicale complete pentru fiecare pacient, ceea ce a condus la dificultăți în corelarea cursului clinic cu constatările patologice. În plus, valorile PCR, IL-6, d-Dimeri și fibrinogen măsurate din probele postmortem nu au putut fi comparate cu valorile prezente înainte de deces deoarece toți subiecții incluși în studiu au decedat în afara unor cadre spitalicești.

De la începutul pandemiei de COVID-19, doar câteva studii la nivel mondial au evaluat modelele de expresie a microARN-urilor în probe biologice postmortem ale indivizilor infectați cu SARS-CoV-2. Luând acest lucru în considerare, a doua parte a tezei a avut ca scop explorarea potențialului diagnostic al microARN-urilor circulante (microRNA-6501-5p, microRNA-5695 și microRNA-29b-3p) în detectarea postmortem a infecției cu SARS-CoV-2.

Per ansamblu, descoperirile noastre demonstrează relevanța miR-6501-5p, miR-29b-3p și miR-5695 în disfuncția endotelială și în răspunsul inflamator la pacienții cu infecție SARS-CoV-2. Rezultatele mandatează în a folosi o abordare multiparametrică în evaluarea microARN-urilor ca indicatori clinici.

Este relevant de subliniat că dimensiunea mică a eșantionului, lipsa altor pacienți cu boli respiratorii ca și grupuri de control și utilizarea altor semnături/panouri de microARN reprezintă principalele limitări ale acestui studiu. Riscurile de părtinire includ incapacitatea de a verifica cifrele raportate și numărul limitat de studii care se referă în mod specific la analiza biochimică a sângelui în context postmortem. În ultimul rând, nu am efectuat colorare imunohistochimică sau microscopie electronică pe probele de țesut pulmonar. Sunt necesare studii la scară largă pentru a aborda aceste limitări.

Pe măsură ce pandemia de COVID-19 a evoluat și numărul de cazuri a crescut la nivel mondial, mai multe lucrări științifice au fost publicate în literatura medicală, începând cu martie 2020, raportând pacienți care au dezvoltat PT spontan, PM sau chiar PP, în absența ventilației mecanice invazive. Inițial, aceste condiții au fost considerate complicații rare ale infecției cu SARS-CoV-2. Analizând baza de date a celor două Departamente de Boli Infecțioase ale Spitalului Clinic de Pneumoftiziologie și Boli Infecțioase Victor Babeș Timișoara, printre toți pacienții spitalizați pentru infecția cu SARS-CoV-2 în timpul primului val de COVID-19 (28 februarie - 31 iulie 2020), când internarea în spital era obligatorie pentru toate persoanele infectate cu SARS-CoV-2, în contrast cu studiile citate, nu am găsit nicio mențiune a unor astfel de complicații. Începând cu 1 octombrie 2020 până la sfârșitul lunii ianuarie 2021 (perioadă corespunzătoare celui de al doilea val pandemic), din totalul celor

1648 de pacienți admiși în spital, am observat apariția acestor complicații la 11 subiecți, ceea ce duce la o prevalență de 0,66%, similară cu aproximativ 1% raportată pentru pacienții spitalizați în literatura medicală.

În populația noastră de studiu, PM, PT, PP și SE au apărut spontan, după câteva zile de progresie a bolii, adesea coincidând cu agravarea leziunilor pulmonare, dar în absența ventilației mecanice invazive sau a ventilației cu presiune pozitivă non-invazivă. PT a fost diagnosticat cel mai frecvent (în opt cazuri - 72,72%), urmat de PM, asociat cu ES la toți acești pacienți (șapte cazuri - 63,63%), în timp ce PP a fost identificat doar la un subiect (9,09%).

În contrast cu alte studii unde a fost raportată o mortalitate mai mică, în populația noastră de studiu, PT, PM și PP au condus frecvent la un rezultat fatal (72,72%), în ciuda măsurilor de terapie intensivă, inclusiv ECMO într-un caz. În plus, s-a observat că supraviețuitorii au fost spitalizați mai repede după debutul simptomelor, cu un început mai timpuriu al terapiei specifice pentru a evita progresia leziunilor pulmonare existente și nu au înregistrat infecții secundare. Ca și în multe rapoarte timpurii ale pandemiei, Studiul III este limitat datorită dimensiunii mici a eșantionului și distribuției populației.

Datele privind agenții patogeni bacterieni sau fungici și impactul acestora asupra ratelor de mortalitate ale pacienților COVID-19 din vestul României sunt limitate. Ca urmare, scopul celei de-a patra părți a acestei inițiative de cercetare a fost de a determina prevalența co- și superinfecțiilor bacteriene și fungice la adulții din vestul României cu COVID-19, spitalizați în a doua jumătate a pandemiei, și distribuția acestora în funcție de condițiile sociodemografice și clinice. În plus, culturile de spută sunt eficiente din punct de vedere al costurilor și ne-au permis să evaluăm patogenii respiratori regionali asociați pneumonie COVID-19.

În cadrul Studiului IV, am găsit rate destul de mari de coinfecții bacteriene și infecții secundare (23,3% și respectiv 16,95%) comparativ cu un studiu realizat de Timpau et al., unde cifrele raportate au fost semnificativ mai mici (1,4% și respectiv 6,8%), dar similare cu ratele de prevalență observate de Langfort et al., Novacescu et al., și Contou et al.

Presupunem că un dezechilibru în microbiota respiratorie, cum ar fi infecția SARS-CoV-2, poate determina organismele comensale să acționeze ca patogene. ACE2, receptorul pentru SARS-CoV-2, este stimulat de interferoni și, astfel, ar putea fi modulat de microbiomul respirator.

Printre agenții etiologici responsabili de coinfecțiile și superinfecțiile fungice, speciile *Candida* spp. (53,4%) și *Aspergillus* spp. (41,1%) au fost cele mai frecvent detectate. Boala

fungică invazivă oportunistică în contextul unei boli virale respiratorii severe nu este nouă, fiind bine descrisă în contextul gripei, infecțiilor respiratorii cu virusuri paragripale și infecțiilor cu virusul sincițial respirator. Deși o asemenea rată mare de co- și superinfecții fungice ar putea părea o supraestimare, având în vedere faptul că populația noastră de studiu a exclus pacienții grav bolnavi, acest lucru poate fi explicat în contextul igienei orale slabe, disfuncției imunitare și efectelor citopatice virale asupra celulelor epiteliale ductale.

În ceea ce privește distribuția rezistenței antimicrobiene printre pacienții cu COVID-19, 6,5% din probe și 4,5% din probe în grupurile bacteriilor patogene și agenților patogeni comensali, respectiv, au fost rezistente la mai mult de cinci antimicrobiene. Acest lucru poate fi explicat de contextul actual în care combinația fricii de COVID-19 și lipsa cunoștințelor adecvate despre utilitatea antibioticelor are un impact direct asupra accesului la antibiotice fără prescripție medicală, în special în țările cu venituri mici și medii, cum ar fi România, cu măsuri slabe de control al antibioticelor.

Studiul IV are limitări. Prin aplicarea unei definiții stricte a coinfecției bacteriene bazate pe probe de spută luate în termen de 48h de la internare, studiul nostru a redus deliberat sensibilitatea. Am eliminat rezultatele culturilor de la speciile bacteriene susceptibile să reprezinte contaminare încrucișată. Validitatea culturilor microbiene din spută este îmbunătățită printr-o definiție strictă a cazurilor și o revizuire radiografică adecvată, dar în absența unui standard de aur, diagnosticul este adesea subexpus. În final, statutul de vaccinare anti-COVID-19 al pacienților nu a fost inclus în analiza statistică datorită heterogenității datelor (rata scăzută de vaccinare sau schemă de vaccinare incompletă și trei vaccinuri disponibile pe piața românească).

Impactul COVID-19 asupra pacienților din România cuprinde multiple dimensiuni, de la sănătate publică și epidemiologie, până la presiunea sistemului de sănătate, populațiile vulnerabile, variantele virale, consecințele socioeconomice, colaborarea internațională și implicațiile politice. În plus, scenariile de urgență ca această pandemie aduc adesea provocări medico-legale diverse. În ciuda laudelor inițiale ale populației către profesioniștii din domeniul sănătății în lupta împotriva COVID-19, ulterior s-au solicitat și înregistrat repercusiuni medico-legale importante.

Conceptul de cauzalitate este fundamental în medicina legală și dificultățile întâmpinate în încercarea de a diferenția între decesele cu COVID-19 și decesele datorate COVID-19 reprezintă o problemă substanțială.

COVID-19, o boală mult mai complexă și heterogenă decât se anticipase inițial, a avut un impact semnificativ asupra României. Identificarea pacienților cu risc ridicat și alocarea adecvată a resurselor de sănătate în timpul pandemiei pot fi efectuate cu utilizarea

datelor de laborator, care au potențialul de a fi utilizate ca indicatori timpurii pentru a îmbunătăți managementul pacienților cu COVID-19.

Scopul principal al acestei disertații doctorale este centrat pe infecția cu SARS-CoV-2, concentrându-se pe mai mulți biomarkeri cu utilizare potențială în diagnosticul postmortem al COVID-19, aspectele histologice și complicațiile bolii, în special datorate rupturii alveolare, coinfecțiilor și superinfecțiilor. Concentrându-se pe pacienții cu COVID-19 din vestul României, împreună cu posibilele aspecte medico-legale ale infecției cu SARS-CoV-2, această teză doctorală oferă o înțelegere cuprinzătoare a efectelor pandemiei. Această cunoaștere este esențială pentru elaborarea intervențiilor țintite, informarea deciziilor politice și contribuie la eforturile globale de a depăși provocările impuse de COVID-19.

În ciuda faptului că de-a lungul istoriei, am suferit o serie de pandemii care ne-au epuizat demografic, izbucnirea epidemiologică a COVID-19 la sfârșitul anului 2019 a evidențiat că rămânem o specie fragilă, supusă factorilor de mediu.