

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ
DEPARTAMENTUL XIII – BOLI INFECTIOASE**

CĂPRARU IONUȚ-DRAGOȘ



**IMPACTUL PANDEMIEI CU SARS-COV-2 ASUPRA
PACIENȚILOR DIN GRUPE VURNELABILE DIN VESTUL
ROMÂNIEI**

**REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT**

**Conducător științific
PROF. UNIV. DR. CĂTĂLIN MARIAN**

**Timișoara
2024**

CUPRINS

PARTEA GENERALĂ.....	1
1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII INFECȚIEI CU SARS-COV-2.....	1
1.1. Generalități și structură	1
1.2. Simptomatologia COVID-19	2
1.3. Tratamentul și complicațiile în COVID-19	3
2. EPIDEMIOLOGIA COVID-19.....	4
3. ASPECTE ALE PANDEMIEI COVID-19 ÎN GRUPE VULNERABILE PARTICULARE	6
PARTEA SPECIALĂ.....	7
4. Scopul și obiectivele generale ale lucrării	7
4.1. Identificarea variantelor genomice ale virusului SARS-CoV-2 în regiunea de Vest a României, utilizând tehnica nanopore sequencing	7
4.2. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la copii, adulți și vârstnici din Vestul țării.....	10
4.3. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la persoanele de etnie Roma, în comparație cu populația generală din Vestul României	12
4.4. Discuții cu privire la impactul COVID-19 asupra lucrătorilor din domeniul sanitar și vulnerabilitatea generată de domeniul de activitate în partea de Vest a României	13
CONCLUZII.....	15
BIBLIOGRAFIE	17

PARTEA GENERALĂ

1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII INFECȚIEI CU SARS-COV-2

1.1. Generalități și structură

Sindromul respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2) este o variantă virală care cauzează afecțiunea respiratorie cunoscută sub numele de COVID-19. Inițial identificat sub numele de "noul coronavirus 2019" (2019-nCoV) sau "coronavirus uman 2019" (HCoV-19 sau hCoV-19), acesta a fost identificat inițial în orașul Wuhan din provincia Hubei, China. Pandemia globală a fost recunoscută de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) ca o "urgență de sănătate publică de interes internațional" la data de 30 ianuarie 2020 și ulterior ca o pandemie la data de 11 martie 2020, în fața rapidității cu care s-a răspândit și a impactului său semnificativ asupra sănătății publice la nivel global [1,2].

Răspândirea rapidă și neașteptată a virusului SARS-CoV-2 a avut consecințe devastatoare care au depășit orice anticipare. Pe lângă factorii medicali esențiali, precum susceptibilitatea pacienților și virulența virusului, au existat și elemente adiționale legate de aspecte organizaționale, logistice și administrative care au amplificat impactul pandemiei. Printre acestea, alocările bugetare insuficiente în sectorul sănătății au dus la deficiențe critice în aprovizionarea cu echipamente esențiale de protecție, precum măști, mănuși, halate și tampoane de testare. De asemenea, densitatea mare a populației în anumite zone a facilitat răspândirea virusului prin contacte fizice frecvente, creând un mediu propice pentru transmiterea rapidă a infecției. Panică generată și neîncredere au accentuat dificultățile, afectând gestionarea adecvată a situației și contribuind la modificări semnificative în modul de organizare și tratare a pacienților. Aceste aspecte, împreună cu alți factori contextuali, au creat un cadru complex și dinamic care a cerut răspunsuri rapide și adaptabile din partea sistemului de sănătate și a autorităților responsabile [3,4].

Grupurile de minorități, fie că sunt definite pe criterii etnice, economice sau sociale, au fost grav afectate de profunde reverberații ale crizei sanitare globale generate de COVID-19. În continuare, ne propunem să investigăm impactul devastator al pandemiei asupra diverselor comunități minoritare la nivel global. Ne concentrăm asupra disproporționalităților și inegalităților evidențiate sau amplificate de către COVID-19, punând în evidență vulnerabilitățile și nevoile specifice ale acestor grupuri marginalizate [5].

SARS-CoV-2, membru al familiei de virusuri coronavirus, este un virus ARN monocatenar, cu sens pozitiv, ceea ce îi permite să fie direct tradus în proteine virale după infectarea celulei gazdă. Similar cu alte coronavirusuri precum SARS-CoV-1, care a cauzat epidemia de SARS în anii 2002-2004, și MERS-CoV, responsabil pentru epidemia de MERS din 2012-2015, SARS-CoV-2 poate provoca infecții respiratorii severe la oameni. Din punct de vedere structural, particulele virale SARS-CoV-2 au un diametru cuprins între 60 și 140 de nanometri, fiind încadrate în categoria virusurilor de dimensiuni medii. Structura sa este compusă din patru tipuri principale de proteine: Proteina S (spike), care permite virusului să se atașeze de celulele umane și să intre în interiorul acestora; Proteina E (envelope), esențială pentru asamblarea și eliberarea virionilor din celula gazdă; Proteina M (membrane), care contribuie la forma și structura particulei virale; Proteina N (nucleocapsid), responsabilă cu împachetarea și protejarea materialului genetic al virusului [6,7].

Acest complex proteic format din proteinele S, E și M constituie învelișul extern al virusului, furnizându-i protecție și recunoaștere la nivel celular. În același timp, genomul ARN monocatenar al virusului, care este liniar și cu sens pozitiv, conține aproximativ 30.000 de baze azotate. Această secvență genetică servește ca plan de instrucțiuni pentru replicarea și producerea de noi particule virale în celula gazdă infectată. Proteina spike este esențială în infectarea celulelor umane de către virusul SARS-CoV-2. Această proteină facilitează

intrarea virusului în celulă prin interacțiunea cu receptorii specifici de pe suprafața celulelor gazdă și inițiază replicarea virală. Glicoproteinele și proteinele membranare de tip I, cunoscute sub numele de proteine S, sunt componente cheie ale virionului [8].

Proteinele de tip I prezintă un singur domeniu transmembranar, orientat spre exteriorul celulei. Subunitatea S1 se leagă de receptorii specifici de pe suprafața celulelor umane, iar subunitatea S2 facilitează fuziunea membranelor, permițând intrarea materialului viral în celulă. Proteina spike conține un domeniu de legare la receptor (RBD) cu o afinitate ridicată pentru receptorul enzimei de conversie a angiotensinei 2 (ACE2), esențial pentru infectivitatea virusului. Structura domeniului RBD, stabilizată printr-o legătură disulfurică, este crucială pentru recunoașterea și legarea la receptorul ACE2 [9,10].

Proteaza transmembranară serină 2 (TMPRSS2) este esențială în infectarea celulei gazdă de către SARS-CoV-2, activând proteina S a virusului prin procesul de priming. Interacțiunea virionului SARS-CoV-2 cu TMPRSS2 al celulei țintă conduce la clivarea proteinei S, facilitând astfel fuziunea membranelor virusului și celulei gazdă. Receptorul ACE2 servește ca punct de ancorare principal pentru SARS-CoV-2. Prin legarea proteinei spike la domeniul enzimatic al ACE2 de pe suprafața celulei, se inițiază un proces de endocitoză, prin care virusul și receptorul sunt internalizați în endozomi. În mediu acid sau sub acțiunea enzimelor celulare, virionul este eliberat din endozom, permițând astfel eliberarea ARN-ului viral în citoplasmă. ARN-ul viral servește ca matrice pentru sinteza de noi particule virale, care sunt ulterior eliberate din celulă, propagând infecția în țesuturile adiacente sau la distanță. Înțelegerea acestor mecanisme moleculare și celulare este crucială pentru dezvoltarea de strategii terapeutice eficiente și pentru înțelegerea patogenezei bolii COVID-19 [11].

Coronavirurile, inclusiv SARS-CoV-2, codifică o serie de proteine nonstructurale (Nsp) esențiale pentru replicarea și transcripția virală, influențând răspunsurile celulare și favorizând supraviețuirea și răspândirea virusului în celulele gazdă. Printre acestea, Nsp1 inhibă traducerea ARN-ului gazdă, Nsp2 este implicat în remodelarea reticulului endoplasmatic și poate suprima răspunsul imun, iar Nsp3 participă la clivarea poliproteinei virale și la formarea complexului replicativ. Nsp4 contribuie la modificarea membranelor celulare, iar Nsp5, cunoscută și sub numele de protează principală (Mpro sau 3CLpro), este esențială pentru clivarea poliproteinei virale. Nsp6, Nsp7 și Nsp8 sunt implicate în formarea complexului replicativ și în modificarea membranelor celulare, în timp ce Nsp9, Nsp10 și Nsp11 își exercită roluri variate în eficiența replicării virale. Nsp12 este ARN polimeraza principală a virusului, Nsp13 acționează ca helicază, iar Nsp14 și Nsp16 sunt implicate în modificarea și protejarea ARN-ului viral pentru evitarea detectării și degradării de către gazda infectată [12,13].

1.2. Simptomatologia COVID-19

Boala COVID-19 prezintă o varietate de manifestări clinice, de la forme ușoare la severe. Simptomele comune includ febra, tusea, durerile de cap și oboseala, iar alte manifestări pot include probleme de respirație, pierderea mirosului și gustului. Perioada de incubație a virusului, în general, variază de la una la paisprezece zile de la expunerea la acesta, iar indivizii infectați pot fi contagioși înainte de a prezenta simptome evidente. Un număr semnificativ de cazuri de COVID-19 sunt asimptomatice, aproximativ o treime din persoanele infectate fiind afectate, ceea ce complică eforturile de diagnosticare și control al răspândirii virusului [14,15].

Datele indică că majoritatea cazurilor de COVID-19 (aproximativ 81%) prezintă simptome ușoare până la moderate, în timp ce aproximativ 14% dezvoltă simptome severe, precum dispnee, hipoxie sau leziuni pulmonare extinse. În cazuri rare, dar grave, aproximativ 5% dintre pacienți pot experimenta simptome critice, cum ar fi insuficiența respiratorie, șocul sau disfuncția multiorganică, necesitând intervenții medicale intensive și spitalizare prelungită. Această varietate de manifestări clinice subliniază complexitatea și gravitatea COVID-19 ca problemă de sănătate publică globală, evidențiind importanța monitorizării atente, diagnosticării precoce și gestionării corespunzătoare a pacienților infectați. Severitatea simptomelor poate fi influențată de diferiți

factori, inclusiv vârsta pacientului, persoanele în vârstă fiind mai susceptibile la forme severe ale bolii și la complicații asociate [16].

Simptomele persistente sau recurente, cunoscute sub numele de "COVID de durată" sau "long-COVID", reprezintă un aspect preocupant al bolii COVID-19. Acești pacienți pot suferi de oboseală cronică, dificultăți respiratorii și leziuni ale organelor timp îndelungat după debutul bolii. SARS-CoV-2 poate provoca leziuni la nivelul plămânilor, inimii, rinichilor și creierului, care pot persista chiar și după recuperarea clinică [17].

Virusul afectează diverse celule umane, având un tropism specific pentru cele care exprimă receptorul ACE2, prezent în multiple țesuturi. Receptorul ACE2 este abundent exprimat pe suprafața celulelor alveolare de tip II din plămâni, explicând severitatea leziunilor pulmonare. În plus, virusul poate infecta și afecta tractul respirator superior și inferior, incluzând sinusurile, nasul, gâtul, traheea și plămânii. Această diversitate de afectare tisulară subliniază complexitatea și gravitatea bolii și subliniază necesitatea unor strategii terapeutice și preventive eficiente pentru gestionarea COVID-19 [18].

Așadar, COVID-19 este o boală multifactorială care afectează o gamă largă de sisteme și organe în corpul uman, având potențialul de a provoca complicații grave, în special la persoanele cu comorbidități preexistente. Această complexitate subliniază importanța unei abordări integrate în diagnosticarea, tratamentul și gestionarea pacienților infectați cu SARS-CoV-2 [19-23].

COVID-19 se credea inițial a fi o zoonoză, dar datele ulterioare arată că transmiterea principală are loc între oameni, cu particule virale rămânând în aer pentru câteva minute sau ore, favorizând inhalarea și infecția. Persoanele asimptomatice sau pre-simptomatice pot răspândi virusul fără să știe. Pe lângă transmiterea prin aerosoli și picături, virusul poate fi răspândit și prin atingerea suprafețelor contaminate și apoi a feței sau prin contactul cu materiile fecale, sugerând o posibilă cale fecal-orală. Transmiterea verticală de la mamă la făt sau prin laptele matern este rară și controversată [24-27].

Metodele standard de diagnostic pentru COVID-19 se concentrează pe identificarea materialului genetic al virusului. Testarea moleculară, în special RT-PCR, este cea mai comună și sensibilă metodă pentru detectarea directă a prezenței virusului. Aceasta implică colectarea de probe respiratorii, de obicei, prin tamponare nazofaringiană sau utilizarea de mostre de spută. RT-PCR detectează și amplifică segmente specifice de ARN viral, furnizând astfel o confirmare precisă a infecției active. În plus, testele serologice sunt utilizate pentru a identifica prezența anticorpilor specifici împotriva SARS-CoV-2 în sângele pacienților, furnizând informații despre răspunsul imun al organismului și fiind utile în studiile epidemiologice și de supraveghere [28].

Pentru diagnosticul imagistic al COVID-19, radiografia toracică și tomografia computerizată (CT) sunt modalități frecvent utilizate. Radiografia toracică poate evidenția opacități bilaterale multilobare cu distribuție periferică, asimetrică și posterioară. În stadiile avansate, se pot observa consolidări pulmonare, dominantă subpleurală și pattern-ul de "crazy paving", indicând inflamație și afectare tisulară extinsă [29].

1.3. Tratamentul și complicațiile în COVID-19

La începutul pandemiei, în lipsa unor tratamente specifice, managementul COVID-19 se concentra pe tratamentul simptomatic, oferind terapii pentru ameliorarea febrei, tusei și altor simptome asociate. Nu exista un protocol clar pentru combaterea virusului în sine. Remdesivir, un medicament antiviral inițial dezvoltat pentru tratarea virusului Ebola, a fost unul dintre primii agenți repurpușați pentru tratamentul COVID-19. Studiile preliminare au sugerat că remdesivir ar putea scurta durata spitalizării la pacienții cu forme severe de boală. Cu toate acestea, eficacitatea sa în reducerea mortalității a fost subiect de dezbateri în comunitatea medicală. Alte medicamente antivirale utilizate includ umifenovir, lopinavir/ritonavir, favipiravir, cu efecte variate asupra eficacității. În plus, azitromicina și hidroxiclorochina au fost medicamente populare, dar cu efecte disputabile [30].

Tratamentul cu plasma convalescentă, care implică administrarea de anticorpi recuperați de la persoanele vindecate de COVID-19 la pacienții infectați, a fost considerat o opțiune promițătoare. Se credea că

acești anticorpi ar putea ajuta la combaterea infecției în organismul pacienților tratați. Cu toate acestea, studiile clinice ulterioare au avut rezultate mixte în ceea ce privește eficacitatea acestui tratament [31].

Medicamentele antiinflamatoare, cum ar fi dexametazona și metilprednisolonul, au demonstrat un potențial semnificativ în reducerea inflamației excesive și a daunelor la pacienții cu forme severe de COVID-19. De asemenea, tratamentele cu anticorpi monoclonali, care vizează direct virusul, au câștigat teren și au fost autorizate pentru utilizare de urgență în anumite situații [32].

În lupta împotriva pandemiei COVID-19, dezvoltarea și distribuirea rapidă a vaccinurilor au reprezentat un punct de cotitură. Vaccinurile Pfizer-BioNTech, Moderna și altele au fost salutate ca soluții promițătoare, oferind o eficacitate semnificativă împotriva virusului. Cu toate acestea, distribuția inegală, dezinformarea și scepticismul au fost provocări majore. Cu toate acestea, datele au arătat că vaccinurile sunt cruciale în reducerea riscului de infecție severă și au fost vitale în adaptarea la noile variante ale virusului. Educația și comunicarea transparentă au fost esențiale în promovarea încrederii și înțelegerii științifice, oferind perspective de salvare a vieților și adaptare la noua realitate [33].

COVID-19 poate provoca complicații grave, inclusiv pneumonie severă și Sindromul de Detresă Respiratorie Acută (SDRA), afectând plămânii și capacitatea de respirație. De asemenea, poate influența inima, crescând riscul de miocardită și alte probleme cardiovasculare. Impactul asupra sistemului nervos central poate duce la accidente vasculare cerebrale, inflamație cerebrală sau simptome precum amețea și pierderea gustului sau mirosului. În plus, pandemia a avut un impact semnificativ asupra sănătății mentale, crescând riscul de anxietate, depresie și alte tulburări psihologice [34].

Infecția cu SARS-CoV-2 poate afecta funcția renală, cauzând insuficiență renală acută și acumularea de toxine în corp. De asemenea, poate declanșa o reacție inflamatorie excesivă numită „furtuna citokină”, care poate provoca daune la nivelul organelor și tisuturilor. Infecția poate perturba și sistemul imunitar pe termen lung, crescând riscul de alte infecții. Complicațiile hematologice pot include citopenie, tromboembolism venos și alte probleme trombotice, precum și fluctuații ale nivelurilor de glucoză în sânge și afectări ale funcției tiroidiene și suprarenale [35-38].

Simptomele asociate cu long COVID includ oboseală persistentă, dificultăți de respirație, dureri articulare și musculare, dureri de cap, pierderea gustului și a mirosului, tulburări de somn și probleme de concentrare sau memorie. Aceste simptome pot persista săptămâni sau luni după recuperarea inițială și pot afecta calitatea vieții pacienților, limitându-le capacitatea de a lucra sau de a efectua activități zilnice. Long COVID reprezintă o preocupare majoră pentru comunitatea medicală și cercetători, care efectuează studii pentru a înțelege mai bine această afecțiune și pentru a dezvolta strategii de gestionare și tratament adecvate [39].

2. EPIDEMIOLOGIA COVID-19

Evoluția și răspândirea SARS-CoV-2 au reprezentat o provocare fără precedent pentru comunitatea globală de sănătate. Pandemia a fost declarată oficial de OMS în martie 2020, având la bază apariția și răspândirea rapidă a virusului, cu originile sale în orașul Wuhan, China, în decembrie 2019. În primele săptămâni ale epidemiei din China, rata de creștere a cazurilor a fost alarmantă, cu numărul de infectări dublându-se în aproximativ șapte zile și jumătate. Răspândirea virusului a fost facilitată și de factori sociali, precum sărbătorile de Anul Nou Chinezesc, când numeroși oameni călătoresc sau se întâlnesc în mod tradițional. Italia a fost lovită puternic, raportând primele sale cazuri la sfârșitul lunii ianuarie 2020, iar numărul crescut de cazuri și decese a atras atenția lumii asupra gravității situației [40].

Statele Unite au devenit epicentrul pandemiei, înregistrând un număr impresionant de cazuri și depășind China și Italia în ceea ce privește numărul total de infectări confirmate. Interesant este faptul că investigațiile genetice ale virusului au arătat că o proporție semnificativă a cazurilor din New York, unul dintre cele mai afectate orașe din SUA, proveneau de la călători europeni, nu direct din China sau alte țări asiatice. Majoritatea guvernelor din întreaga lume au luat măsuri drastice după ce OMS a declarat COVID-19 pandemie, ceea ce a avut repercusiuni sociale, psihologice, logistice, administrative și financiare pe termen lung. Măsurile impuse au

inclus restricții non-farmaceutice, cum ar fi izolarea socială, interzicerea mișcării libere în anumite intervale de timp și purtarea de echipament de protecție. Răspândirea și evoluția SARS-CoV-2 au fost marcate de descoperiri științifice semnificative și de apariția unor noi variante ale virusului, cum ar fi variantele Alfa și Delta, care au ridicat preocupări în rândul comunităților medicale și a publicului larg [41,42].

Varianța Omicron a provocat îngrijorări majore în noiembrie 2021, având o rată de replicare rapidă și o manifestare mai puțin severă decât variantele anterioare. Vaccinurile COVID-19 au fost distribuite pe scară largă, contribuind la reducerea răspândirii și a gravității infecției. Cu toate acestea, până în mai 2022, pandemia a cauzat pierderea a aproximativ 15 milioane de vieți la nivel global [43].

Perioada de la debutul infecției până la deces variază semnificativ, dar mediana acestei perioade este de 14 zile. Riscul de deces este mai mare la persoanele în vârstă și la cele cu afecțiuni medicale preexistente, cum ar fi bolile cardiovasculare sau diabetul. Protejarea acestor grupuri vulnerabile și implementarea măsurilor de prevenție adecvate sunt priorități esențiale în combaterea pandemiei de COVID-19 [44].

Răspândirea rapidă a COVID-19 a avut un impact semnificativ asupra României, cu milioane de cazuri confirmate și mii de vieți pierdute. În efortul de a controla virusul, România a intensificat testarea și a administrat peste jumătate din populație cel puțin o doză de vaccin. Pandemia a adus provocări multiple pentru România, afectând nu doar sistemul medical, ci și alte sectoare guvernamentale și economice. Adaptarea rapidă și eforturile colective au permis țării să facă față acestor provocări. La 8 martie 2022, toate măsurile restrictive au fost ridicate, semnalând un pas important spre revenirea la normalitate și redresarea națională [45].

Pandemia COVID-19 a afectat în mod disproporționat populațiile vulnerabile, inclusiv persoanele în vârstă, cele cu afecțiuni medicale preexistente și comunitățile marginalizate. Factori precum amplasarea geografică și accesul limitat la serviciile medicale au contribuit la această disproporție. În zonele urbane dense, implementarea măsurilor de precauție a fost dificilă, iar lipsa accesului la serviciile medicale adecvate a întârziat diagnosticul și tratamentul, amplificând impactul pandemiei asupra acestor grupuri [46].

Pandemia COVID-19 a amplificat presiunea asupra sănătății mintale, afectând în mod semnificativ comunitățile vulnerabile și grupurile minoritare. Factorii socio-economici preexistenți, împreună cu impactul direct al pandemiei, au contribuit la creșterea nivelurilor de anxietate, depresie și stres în aceste grupuri. Măsurile de izolare și distanțare socială au accentuat sentimentul de izolare și incertitudinea, amplificând impactul psihologic al pandemiei. Este esențial să abordăm aceste aspecte prin dezvoltarea și implementarea unor strategii comprehensive care să ofere sprijin pentru sănătatea mintală, luând în considerare și factorii socio-economici și structurali care contribuie la vulnerabilitatea acestor comunități [47].

Situația grupurilor vulnerabile în fața virusului SARS-CoV-2 în România a reflectat tendințele globale, cu particularități locale. Un studiu a identificat județele cu cele mai mari și cele mai scăzute vulnerabilități în fața pandemiei. Persoanele în vârstă au fost cele mai afectate, cu multe decese înregistrate, în special în centrele de îngrijire a bătrânilor. Izolarea socială a amplificat aceste probleme, având consecințe medicale, sociale și psihologice semnificative [48].

Personalul medical, precum și lucrătorii din domeniul serviciilor publice și alte profesii esențiale, au fost expuși unui risc crescut de infectare în timpul pandemiei COVID-19, dat fiind contactul lor frecvent cu pacienții sau publicul. În România, ezitarea față de vaccinare a fost evidențiată în special în rândul populațiilor vulnerabile. Acest fenomen poate fi influențat de factori culturali, socio-economici și de încredere în sistemul de sănătate. Istoricul recent al țării legat de sistemele de sănătate și de nivelul încrederii populației în autorități poate fi un factor important în explicarea acestei reticente față de vaccinare [49].

Populațiile vulnerabile din România, cum ar fi comunitățile rurale, etnicii romi și persoanele cu educație limitată, sunt adesea mai susceptibile să ezite în fața vaccinării. Ezitarea poate fi alimentată de informații greșite, mituri și percepții negative legate de vaccinuri, inclusiv temeri legate de efecte secundare grave sau utilizarea vaccinurilor ca instrumente de control. Contextul socio-economic este un alt factor care contribuie la ezitarea vaccinării, deoarece persoanele din medii defavorizate pot avea priorități diferite de sănătate sau acces limitat la serviciile de sănătate. Pentru a aborda această problemă, este crucială creșterea nivelului de educație și conștientizare în rândul populațiilor vulnerabile, oferind informații corecte și accesibile despre beneficiile și siguranța vaccinării [50].

3. ASPECTE ALE PANDEMIEI COVID-19 ÎN GRUPE VULNERABILE PARTICULARE

Pandemia COVID-19 a afectat copiii prin închiderea școlilor și tranziția la învățarea online, generând decalaje în accesul la educație și dificultăți de adaptare la mediul virtual. Copiii din comunitățile defavorizate sau minoritățile au fost afectați disproporționat. În plus, pandemia a amplificat stresul și anxietatea copiilor, generând îngrijorări legate de situația financiară a familiilor lor. Este esențial să se ofere soluții adaptate pentru a aborda aceste probleme și a asigura sprijinul adecvat pentru copiii afectați de această criză fără precedent [50].

Populația pediatrică a fost intens studiată în timpul pandemiei pentru a înțelege cum virusul afectează diferitele grupe de vârstă și pentru a dezvolta strategii adecvate de gestionare și prevenție. Deși inițial copiii păreau a fi mai puțin afectați, au fost raportate ulterior cazuri, majoritatea ușoare sau asimptomatice, dar existând și cazuri severe, inclusiv Sindromul inflamator multisistemic pediatric (PIMS sau MIS-C), o afecțiune rară, dar gravă, asociată cu infecția cu SARS-CoV-2 la copii și adolescenți. Tratamentul cu remdesivir s-a dovedit a fi util în scurtarea duratei spitalizării la copii. În România, vaccinarea copiilor a rămas un subiect disputat, cu toate că Organizația Mondială a Sănătății a recomandat administrarea vaccinului începând cu vârsta de 12 ani [51,52].

Vârșnicii au fost o categorie intens studiată în contextul pandemiei COVID-19, fiind considerați un grup cu risc crescut din cauza sistemului lor imunitar slăbit și a prezenței unor comorbidități frecvente. Căminele de bătrâni au devenit focare de transmitere rapidă a virusului din cauza proximității și contactului strâns dintre rezidenți. Izolarea și restricțiile impuse au adus sentimentul de singurătate și izolare, accentuând impactul psihologic al pandemiei asupra acestui grup vulnerabil. Este esențial să se abordeze nu doar riscurile medicale, ci și nevoile emoționale și sociale ale vârstnicilor în timpul pandemiei [53].

Persoanele în vârstă prezintă un risc crescut de morbiditate și mortalitate asociată cu COVID-19, în special dacă au comorbidități precum hipertensiunea, diabetul sau bolile cardiovasculare. Sistemul lor imunitar poate fi mai puțin reactiv, iar capacitatea de a combate infecția este redusă. COVID-19 poate provoca complicații grave, cum ar fi insuficiența multiorganică, coagulopatiile și afecțiunile neurologice, care pot avea consecințe pe termen lung și necesită îngrijire medicală continuă. Vârsta înaintată a fost un factor predictiv pentru severitatea bolii și riscul crescut de dezvoltare a insuficienței respiratorii acute, care necesită adesea tratament cu oxigenoterapie, ventilație mecanică sau ECMO [54].

În ceea ce privește terapia specifică pentru SARS-CoV-2, medicamentele antivirale precum remdesivirul sau ritonavirul au fost autorizate pentru utilizare în anumite circumstanțe, dar eficacitatea lor în rândul vârstnicilor necesită încă cercetare suplimentară. Imunomodulatele, precum corticosteroizii și tocilizumabul, sunt utilizate în anumite situații pentru a reduce inflamația excesivă asociată cu COVID-19. Cu toate acestea, utilizarea dozelor mari de corticosteroizi poate fi asociată cu o creștere a mortalității. Tocilizumabul este un alt imunomodulator utilizat frecvent și cu eficacitate crescută. Vaccinarea este esențială pentru reducerea riscului de infecție și complicații la vârstnici. Vaccinurile autorizate și recomandate au demonstrat eficacitate în prevenirea formelor severe de boală și reducerea riscului de deces în rândul acestei populații. Majoritatea vaccinurilor au arătat rezultate promițătoare și sigure în această categorie de vârstă, iar pacienții geriatrici vaccinați au prezentat simptome mai puțin severe și o recuperare mai rapidă [55,56].

Populațiile minoritare din multe țări sunt mai expuse la COVID-19 din cauza inegalităților socio-economice. Aceste grupuri au avut rate mai mari de internare, ventilare mecanică și decese legate de boală. În Statele Unite, afro-americanii, hispanicii și migranții au prezentat riscuri mai mari, iar în Europa de Vest, persoanele de culoare au avut rezultate mai severe. Populațiile vulnerabile au arătat și ezitare în fața vaccinării [48,57,58].

PARTEA SPECIALĂ

4. Scopul și obiectivele generale ale lucrării

Pandemia COVID-19 a evidențiat și accentuat inegalitățile sociale și economice existente, expunând vulnerabilitățile grupurilor marginalizate și ale minorităților. Aceste comunități, care erau deja afectate de discriminare și de lipsa accesului la serviciile esențiale, au fost grav afectate de criză. Disparitățile în domeniul sănătății, al educației și al sprijinului social s-au adâncit, afectând în special segmentele cele mai vulnerabile ale societății. Răspunsul la această criză trebuie să depășească gestionarea imediată a pandemiei și să abordeze cauzele subiacente ale inegalităților. Guvernele, organizațiile neguvernamentale și liderii comunitari ar trebui să colaboreze pentru a dezvolta și implementa strategii durabile. Acestea ar trebui să vizeze nu doar atenuarea efectelor imediate ale pandemiei, ci și reconstrucția și revitalizarea comunităților vulnerabile, asigurând accesul la servicii de sănătate, sprijin social și oportunități economice echitabile pentru toți membrii societății.

Obiectivele lucrării sunt:

1. Identificarea variantelor genomice ale virusului SARS-CoV-2 în regiunea de Vest a României, utilizând tehnica nanopore sequencing
2. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la copii, adulți și vârstnici, în Vestul țării
3. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la persoanele de etnie Roma, în comparative cu populația generală din Vestul României
4. Discuții cu privire la impactul COVID-19 asupra lucrătorilor din domeniul sanitar și vulnerabilitatea generată de domeniul de activitate în partea de Vest a României

4.1. Identificarea variantelor genomice ale virusului SARS-CoV-2 în regiunea de Vest a României, utilizând tehnica nanopore sequencing

În ultimii ani, pandemia de COVID-19, cauzată de virusul SARS-CoV-2, a generat repercusiuni socio-economice semnificative la nivel global. Acest virus, clasificat în genul Betacoronavirus, prezintă o tendință pronunțată la mutație, impunând necesitatea secvențierii regulate a genomului său. Aceste eforturi sunt cruciale pentru înțelegerea evoluției virusului, identificarea variantelor și adaptarea testelor de diagnostic și a strategiilor de vaccinare. Secvențierea genomică a contribuit, de asemenea, la elucidarea relației dintre mutațiile virale și manifestările clinice ale COVID-19, inclusiv cazurile de reinfecție [59,60].

Secvențierea acestui virus a fost realizată folosind diverse tehnici de metagenomica, captura specifică și amplificarea prin PCR. Metagenomica este utilizată pentru identificarea și caracterizarea agenților patogeni noi, fără cunoștințe prealabile despre secvența lor genomică. Pe de altă parte, secvențierea bazată pe capturarea unei regiuni specifice de interes necesită cunoștințe detaliate despre genom. Aceste abordări sunt influențate de încărcătura virală a mostrelor, iar tehnicile bazate pe PCR sunt preferate pentru mostre cu conținut viral scăzut sau deteriorate, deoarece sunt mai sensibile și pot detecta cantități mici de material viral. Cu toate acestea, metoda PCR poate introduce artefacte și biasuri, necesitând validare suplimentară. Metoda PCR-tiling este o metodă specifică, eficientă și mai puțin costisitoare pentru secvențierea virusului [60,61].

Metodele bazate pe PCR nu sunt adecvate pentru descoperirea de agenți patogeni noi, deoarece necesită cunoștințe prealabile despre secvența genomului. Un aspect esențial și o limitare majoră a acestor metode se referă la eficacitatea primerilor, mai ales când apar noi variante ale virusului. Interferența cu secvențele de hibridizare poate duce la o acoperire redusă sau la asamblarea incompletă a genomului, subliniind necesitatea monitorizării continue și adaptării metodologiei în funcție de evoluția virusului și a variantelor sale. Platformele de secvențiere cu citiri scurte, precum Ion Torrent și Illumina, sunt recunoscute pentru precizia lor și sunt

considerate standardul actual în domeniu. Cu toate acestea, secvențierea cu citiri lungi, cum ar fi cele oferite de Oxford Nanopore Technologies (ONT), devine tot mai apreciată pentru combinația dintre costul redus și mobilitatea echipamentelor. Avantajul major al secvențierii cu nanopore este eliminarea necesității unei infrastructuri de laborator sofisticate sau a unui personal cu expertiză extinsă, permițând analiza datelor în timp real chiar și pe teren [59,62].

Un aspect remarcabil al tehnologiei Nanopore este portabilitatea sa; de exemplu, dispozitivul MinION nu necesită acces la internet, permițând cercetătorilor să îl utilizeze în studii de teren sau în regiuni izolate. Rezultatele obținute în cadrul unor evenimente epidemiologice, precum epidemia de Ebola, Zika sau febra Lassa, au demonstrat eficiența acestei tehnologii în monitorizarea rapidă și precisă a răspândirii agentului patogen, adaptându-se pentru identificarea și caracterizarea noilor mutații virale sau pentru explorarea diversității moleculare a diferitelor tipuri de ARN. Capacitatea de a se adapta și de a răspunde eficient la diverse provocări de cercetare confirmă valoarea inestimabilă a tehnologiei Nanopore în secvențierea genomului [60,62].

Rețeaua ARTIC a jucat un rol esențial în dezvoltarea unui protocol avansat pentru secvențierea cu nanopore și analiza ulterioară a datelor. Această metodă a fost implementată cu succes în gestionarea epidemiilor de Ebola și Zika, iar ulterior a fost adaptată pentru identificarea rapidă a virusului SARS-CoV-2. Protocolul a fost revizuit pentru a introduce scheme alternative de primeri și pentru a ajusta dimensiunea ampliconilor, permițând astfel o pregătire mai rapidă a bibliotecii și o creștere semnificativă a multiplexării, cu până la 96 de probe analizate simultan. În perioada 2020-2021, rețeaua ARTIC a dezvoltat setul de primeri ARTIC V4 pentru secvențierea genomului virusului SARS-CoV-2, în răspuns la apariția unor noi mutații. Aceste adaptări au fost necesare pentru a asigura o acoperire completă a genomului și pentru a menține protocolul la nivelul tehnicilor de secvențiere de ultimă generație [63,64].

Scopul fundamental al acestui studiu a fost să dezvolte și să valideze un flux de lucru pentru identificarea variantelor mutante ale SARS-CoV-2 prin tehnica de secvențiere Nanopore, cu un accent special pe subpopulațiile vulnerabile. Utilizând dispozitivul MinION MK1C și protocolul ARTIC, am avut ca obiectiv identificarea și analiza variantelor virusului care au circulat în județul Timiș, România, între august 2021 și mai 2022.

Ca materiale și metode, probele nazofaringiene și orofaringiene au fost colectate de la pacienții infectați cu SARS-CoV-2, internați în Spitalul de Boli Infecțioase "Victor Babeș" din Timișoara, România. Pentru a asigura integritatea materialelor biologice, fiecare probă a fost plasată într-un mediu de transport specializat și livrată rapid în decurs de 3 ore la Laboratorul de Diagnostic Molecular și Biochimic al UMFTVB. Probele au fost gestionate și stocate anonimizat la o temperatură de -80°C pentru a garanta integritatea genomului viral. Validarea și susținerea Comitetului de Etică al UMFTVB au asigurat respectarea drepturilor și bunăstării pacienților în procesul de cercetare. ARN-ul viral a fost extras cu ajutorul Kit-ului Maxwell® RSC Viral TNA de la Promega, pe platforma automatizată Maxwell RSC. După extracție, concentrația ARN-ului viral a fost evaluată cu Kit-ul de Analiză ARN HS, folosind instrumentul Qubit 2.0 de la Thermo Fisher. Pentru confirmarea prezenței SARS-CoV-2, s-a utilizat Kit-ul de Detecție GenomeCov19 de la ABM, iar analiza RT-qPCR s-a efectuat pe instrumentul Bio-Rad CFX96. Controlul pozitiv și negativ a fost inclus, iar genele N și S au fost vizate în genomul viral. Eșantioanele cu un ciclu de prag (Ct) mai mare de 32 au fost excluse din analiză.

Pentru testarea MinION, am adaptat protocolul de secvențiere SARS-CoV-2, numit nCoV-2019 sequencing protocol v3 (LoCost) V.3, dezvoltat de echipa ARTIC, folosind reactivi NEB și tehnologia ONT. Fiecare etapă a inclus 23 de probe individuale și un control negativ, folosind Kit-ul SQK-LSK109 de la ONT. Pentru sinteza cADN-ului, am combinat LunaScript RT SuperMix cu ARN-ul viral și am ajustat concentrația probelor în funcție de valoarea Ct pentru o pregătire optimă. Am generat fragmente suprapuse (~400 bp) prin amestecarea Hot Start High Fidelity Master Mix cu grupul de primeri V3 sau V4, apoi am realizat reacții separate pentru fiecare probă. După combinarea și diluția probelor, am folosit modulul NebNext Ultra II End Repair/dA-Tailing pentru pregătirea finală, urmată de codare și purificare. Probele au fost cantificate folosind Qubit 2.0 și un Kit de analiză dsDNA HS, iar pentru ligarea adaptorilor am utilizat enzime specifice. Biblioteca obținută a fost încărcată într-un flux R9.4.1 pe un instrument MinION Mk1C pentru identificarea și analiza secvențelor. Procesul de identificare a bazelor și de demultiplexare a fost realizat cu software-ul MinKNOW 20.10 pe

instrumentul MinION Mk1C, asigurând identificarea corectă a fiecărui fragment amplificat prin codurile de bare. Analiza ulterioară a datelor a fost efectuată pe platforma Epi2me dezvoltată de Metrichor Ltd., care integrează secțiunile Artic, Nextclade și Pangolin. Software-ul Artic evaluează acoperirea fragmentelor și investighează ampliconii individuali care ar fi putut să nu fie amplificați corect. Nextclade identifică variațiile genetice, iar Pangolin stabilește liniajul mostrei. Genomul de referință folosit a fost cel al virusului SARS-CoV-2 din Wuhan, cu codul MN908947.

Pentru testarea Ion Torrent, probele au fost selectate pentru secvențiere pe baza calității și cantității ARN-ului viral, cu valori Ct < 32 și o concentrație minimă de 7 ng/μL, determinate cu Kit-ul TaqMan 2019-nCoV Assay v1. Revers-transcripția ARN-ului viral în ADN complementar a fost realizată folosind kit-ul SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis conform instrucțiunilor. Fragmentele de interes pentru secvențiere au fost obținute cu Panelul Ion AmpliSeq™ SARS-CoV-2, iar pregătirea bibliotecii a fost efectuată cu Ion AmpliSeq™ Library Kit Plus utilizând instrumentul Ion Chef. Eșantioanele au fost secvențiate pe un aparat Ion Gene Studio S5 folosind un cip Ion Torrent 540. Procesarea datelor a fost realizată cu Iterative Refinement Meta Assembler (IRMA), iar alinierea, identificarea liniei genetice și cladirii au fost efectuate cu Nextclade și genomul de referință SARS-CoV-2 (MN908947).

Rezultatele secvențierii Nanopore au arătat că majoritatea eșantioanelor analizate pentru secvențiere a ARN-ului viral SARS-CoV-2 au prezentat o calitate excelentă, cu valori Ct între 11,9 și 29 și un scor mediu de calitate peste pragul standard. Din cele 103 de eșantioane inițiale, 96 au furnizat secvențe clare și interpretabile, însă 7 au prezentat ambiguități semnificative. Procesul de secvențiere a implicat șase runde distincte, iar unele eșantioane au fost supuse unei duble analize. Media generală a citirilor obținute în toate etapele a fost de aproximativ 1.646.673, dintre care o medie de 390.414 erau neclasificate, evidențiind complexitatea și diversitatea setului de date.

În contextul analizei numărului mediu de mutații identificate, s-a observat că clada 21L (Omicron) se distinge prin prezența a 59 de mutații, marcând cel mai înalt nivel de variație. În continuare, clada 21K (Omicron) a fost notată cu 47 de mutații, urmată de clada 21J (Delta) cu 34 de mutații. Celelalte clade, cum ar fi 20I (Alpha, V1) și 21I (Delta), au prezentat 32, respectiv 26 de mutații, în timp ce clada 20A a înregistrat 24 de mutații. Notabil, clada 21B (Kappa) a avut o variație genetică minimă, cu doar o mutație identificată. În privința acoperirii genomului, majoritatea eșantioanelor au prezentat valori peste 250×, cu o medie a lungimii secvențelor de aproximativ 519,17 bp. O observație interesantă a fost legată de o regiune specifică a genomului, între 20 k și 22 k, care a evidențiat o acoperire mai redusă. Acest fenomen ar putea fi atribuit modificărilor sau variațiilor în zonele de legare a primerilor. Pentru o mai bună ilustrare a acestui fenomen, Figura 4.2. prezintă detaliat acoperirea secvențială pentru eșantionul cu cod de bare 5 din runda de secvențiere 6, având în vedere grupurile de primeri A și B utilizate.

Rezultatele secvențierii Ion Torrent au observat o încărcare medie a Particulelor Sferice Ion (IPS) de 91%, iar 99,5% dintre acestea conțineau biblioteca reală a pacientului. IPS-urile policlonale au reprezentat 28% din total, iar produsele cu calitate inferioară au constituit 11,3%. Nu s-au identificat adaosuri de dimere, asigurând astfel o compoziție finală a bibliotecii IPS de aproximativ 60%. Media lungimii citirilor a atins 190 bp, iar aproape toate citirile (98,6%) s-au aliniat corespunzător genomului de referință. Pentru majoritatea probelor analizate, datele au fost congruente în ceea ce privește identificarea cladelor (90,90%) și determinarea liniilor genetice (72,72%). Cu toate acestea, în afara cladei 20I (Alpha), tehnologia Ion Torrent a evidențiat un număr mai mare de mutații decât Nanopore: în medie, 27,9 și 39,8 mutații pentru Ion Torrent, față de 24,1 și 30,9 pentru Nanopore, pentru cladele 20A și 21I+J (Delta), respectiv. În ceea ce privește corelația între cele două tehnici, procentul mediu de corespondență a fost de 80%. Un aspect interesant a fost identificarea a 2 din 3 eșantioane care, având același număr de mutații identificate de ambele metode, au prezentat aceleași schimbări genetice.

Analiza completă a genomului oferă o perspectivă detaliată asupra parcursului evolutiv al virusului. Secvențierea prin Nanopore se distinge în primul rând prin eficiența sa temporală: tehnologia ONT necesită mai puțin de 20 de ore, în timp ce platforme ca Illumina și Ion Torrent solicită 36 de ore, care se și asociază cu costuri ridicate [65].

Protocolul ARTIC a devenit o alegere populară în rândul laboratoarelor, inclusiv în cele care nu au o expertiză extinsă în secvențierea de nouă generație. Popularitatea sa se datorează naturii sale intuitive, costurilor reduse și eficacității în detecția virusului [66].

Variația genetică este adesea specifică anumitor populații, iar analiza diverselor grupuri etnice poate dezvălui diferențe semnificative în alele, care pot avea importanță clinică. Studiul lui Shen et al. a identificat diferențe genetice între grupurile etnice în susceptibilitatea la COVID-19 în Florida. Alelele MHC din grupul european prezintă proteina E, în timp ce cele din grupul afro-american prezintă alelele de protecție. Aceste constatări sugerează că alte regiuni ale virusului, în afara domeniului RBD, sunt imunogene. Acest lucru ar putea influența dezvoltarea vaccinurilor și a medicamentelor pentru grupurile afectate specific [67].

Creșterea semnificativă a expresiei genei F8A2 la afro-americieni, care codifică proteina HAP40, poate influența răspunsul celular la SARS-CoV-2. Studiile de expresie genică la afro-americieni au arătat o activitate crescută a anumitor tipuri de celule în esofag și plămâni, incluzând celule glandulare esofagiene și cheratinocite bazale pozitive pentru ACE2. Aceste constatări oferă informații prognostice importante care ar putea contribui la rafinarea strategiilor de prevenire și tratament al COVID-19 la această populație. Este esențial să includem metadatele despre factorii genomici și socio-ambientali în studiile de secvențiere ADN uman pentru a înțelege mai bine cauzele divergenței fenotipurilor moleculare [68].

4.2. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la copii, adulți și vârstnici din Vestul țării

Infecția cu COVID-19 a fost asociată cu o serie de biomarkeri semnificativi în răspunsul inflamator. Lactat dehidrogenaza (LDH): Un indicator al permeabilității vasculare în leziunile pulmonare mediate imun, strâns legat de diverse afecțiuni, inclusiv bolile cardio-pulmonare și cancerul. Proteina C reactivă (CRP): Utilizată pentru identificarea și evaluarea condițiilor inflamatorii și a leziunilor tisulare. Creatinichinaza (CK): Asociată cu mortalitatea în cazul infecției cu COVID-19. Vitamina D (25-OHD): Poate influența pozitiv sistemul imunitar, încetinind replicarea virală și reducând inflamația. Ferritina (FER): Un indicator valoros, indicând posibila prezență a limfohistiocitozei hemofagocitare secundare și asociată cu un prognostic nefavorabil în COVID-19. Colesterolul lipoproteinelor cu densitate ridicată (HDL): Nivelul său a fost observat să aibă o relație invers proporțională cu severitatea bolii, fiind asociat cu o susceptibilitate redusă la COVID-19. Aceste constatări subliniază importanța monitorizării și interpretării corecte a biomarkerilor în managementul și prognosticul pacienților afectați de infecția cu noul coronavirus [69,70].

Datele epidemiologice relevă impactul diferit al virusului COVID-19 asupra grupurilor de vârstă. Copiii sunt în general mai puțin afectați decât adulții, în timp ce vârstnicii, în special cei cu vârstă înaintată, prezintă un risc crescut de complicații severe și deces. Această discrepanță poate fi atribuită mai multor factori, inclusiv funcționarea sistemului imunitar, preexistența altor condiții medicale și factorii socio-economici. Adaptarea strategiilor de prevenție și tratament la specificul fiecărui grup de vârstă este esențială pentru reducerea incidenței și a gravității COVID-19. Un studiu comparativ între copii, adulți și vârstnici ar putea oferi o înțelegere mai profundă a modului în care infecția cu SARS-CoV-2 afectează aceste categorii de vârstă și ar putea contribui la identificarea unor noi strategii de diagnostic și tratament personalizate [69,71].

Materialele și metodele aplicate acestei părți a studiului au implicat o cohortă retrospectiv efectuat pe copii, adulți și vârstnici care au primit un diagnostic pozitiv de COVID-19. Este un studiu multicentric, deoarece copiii au

fost internați în Unitatea de Primire Urgențe (UPU) la Spitalul Pediatric "Louis Țurcanu", în timp ce adulții și vârstnicii au fost internați în UPU la Spitalul Județean de Urgență "Pius Brânzeu", ambele situate în Timișoara, România. Perioada de studiu a fost între 1 martie 2021 și 1 martie 2022 (1 an). Datele au fost colectate din registrele spitalelor.

Severitatea bolii a fost clasificată în cinci categorii distincte: asimptomatică, ușoară, moderată, severă și critică. Au fost analizate informații epidemiologice precum vârsta, sexul și diagnosticul. Biomarkerii selectați au fost: CRP, CK, LDH, FER, 25-OHD și HDL, analizate pe Cobas Integra 400 plus. Valorile normale au fost corelate cu vârsta.

Analiza statistică s-a efectuat cu ajutorul software-ului MedCalc, versiunea 20.218. Analiza a fost realizată folosind testele Kolmogorov-Smirnov, ANOVA, Kruskal-Wallis, testul Chi2 și coeficientul de corelație de rang Spearman. Pentru evaluarea valorii diagnostice, s-au folosit curbele caracteristice ale operării receptorului (ROC), aria de sub curbă (AUC) și indicele Youden pentru determinarea punctului de tăiere. Semnificația statistică a fost stabilită la $p < 0.05$.

Rezultatele testelor la copii au arătat un total de 381 pacienți, cu o distribuție pe sexe similară ($M = 55,64\%$). Majoritatea copiilor au prezentat simptome ușoare ($53,28\%$). Au fost înregistrate 14 ($3,67\%$) cazuri de internare în secția de terapie intensivă, dintre care 7 (50%) au fost clasificate ca severe și 2 ca fiind critice. Au fost înregistrate trei decese ($0,79\%$). Au existat doar două cazuri critice, însă niciunul dintre acestea nu a avut un sfârșit fatal. Severitatea s-a asociat cu creșterea biomarkerilor, cu excepția CK, fiind exclus din analiza ulterioară. Corelațiile cele mai puternice au fost între CRP, FER (directe), HDL (indirectă) și admiterea în ATI. O corelație moderată a implicat FER și decesul.

Rezultatele în rândul adulților au arătat un total de 614 pacienți, cu o distribuție pe sexe similară ($M = 52,12\%$). În ceea ce privește simptomatologia, majoritatea pacienților au prezentat simptome ușoare ($35,02\%$). Au fost înregistrate 81 ($13,19\%$) cazuri de internare în unitatea de terapie intensivă, din care 33 ($40,74\%$) au fost clasificate ca fiind severe și 30 ($37,04\%$) ca fiind critice. În total, au fost înregistrate 53 ($8,63\%$) decese. S-a constatat că bărbații au tendința de a avea niveluri mai scăzute de vitamina D (mediană = 24,28, $p = 0,0028$). Din nou, severitatea s-a asociat cu toți biomarkerii, mai puțin CK. Corelațiile observate au fost: între internarea în ATI și CRP, LDH, FER (directe), 25-OHD, HDL (indirecte), respectiv între deces și CRP, LDH, FER (directe) și 25-OHD, HDL (indirecte).

Rezultatele grupului de vârstnici au prezentat un total de 243 pacienți, cu distribuția pe sexe echivalentă ($M = 42,39\%$). În ceea ce privește severitatea simptomelor, majoritatea pacienților au prezentat o simptomatologie severă ($n = 73$, $30,04\%$). Au fost înregistrate 112 ($46,09\%$) cazuri de internare în unitatea de terapie intensivă (ATI), din care 43 ($38,39\%$) au fost clasificate ca fiind severe și 31 ($33,04\%$) ca fiind critice. În total, au fost înregistrate 61 ($25,1\%$) decese în rândul pacienților. S-a remarcat o diferență semnificativă pentru LDH, care a fost mai mare la bărbați (mediană = 223, $p = 0,0462$). În acest grup, CK a prezentat valoare statistică, alături de ceilalți biomarkeri, însă nu s-au putut corela la analiza Spearman. CRP, LDH, FER (direct), 25-OHD, HDL (indirect) s-a corelat cu internarea în ATI, iar dar CRP, LDH, FER (direct) cu decesul.

Ca risc de internare în ATI, **rezultatele analizelor curbelor** au arătat diferențe semnificative între AUC-ul vitaminei D 25-OH la vârstnici, care este mai mic comparativ cu adulții și copiii, și feritina, unde AUC-ul la copii este mai mare decât la adulți și vârstnici. Nivelurile mai scăzute de vitamina D 25-OH la vârstnici ar putea afecta capacitatea testului de a distinge între cazurile pozitive și negative. În schimb, feritina ar putea fi un marker mai

eficient în diagnosticul sau evaluarea copiilor comparativ cu adulții și vârstnicii. Din punct de vedere al riscului de deces, diferențele semnificative între AUC-uri pentru diverse biomarkeri indică o capacitate variabilă de distincție între grupurile de vârstă și o importanță clinică diferită în funcție de acestea. CRP pare să fie un indicator mai puternic la adulți decât la vârstnici, sugerând o relevanță clinică mai mare pentru detectarea și monitorizarea anumitor afecțiuni la adulți. LDH are o capacitate mai bună de discernere la copii decât la adulți și vârstnici, indicând o sensibilitate diferită a acestui marker în diverse grupe de vârstă. Vitamina D 25-OH prezintă o capacitate mai scăzută de discernere la vârstnici, sugerând o posibilă asociere între nivelurile acesteia și vârstă. Colesterolul HDL are o capacitate mai slabă de discernere la vârstnici, indicând o posibilă schimbare a importanței acestui marker în funcție de vârstă. Feritina prezintă o capacitate foarte ridicată de discernere la toate grupele de vârstă, fiind utilă în diagnosticarea și monitorizarea stării de sănătate în toate aceste categorii, dar poate fi deosebit de relevantă la copii.

4.3. Analiza unor biomarkeri și atestarea rolului lor ca factori predictivi prin compararea acestora la persoanele de etnie Roma, în comparație cu populația generală din Vestul României

O analiză similară a fost realizată pe un eșantion cu pacienți de etnie Romă, în comparație cu populația generală din zona de Vest a României. Populația Romă din Europa se confruntă cu sărăcie, discriminare și acces limitat la serviciile de sănătate, ceea ce agravează problemele de sănătate precum bolile cronice și mortalitatea infantilă. Reticiența față de vaccinare poate fi legată de aceste probleme sociale și de acces la serviciile de sănătate [72,73].

S-au analizat datele demografice, epidemiologice, clinice și biomarkeri, pentru evaluarea severității și evoluției bolii. Se va examina dacă există diferențe semnificative între biomarkerii măsurați în populația generală românească și cei din comunitatea de romi. Scopul este să se ofere informații despre variabilitatea răspunsului la infecția cu COVID-19 în diferite grupuri etnice și socio-economice și să se identifice pacienții cu un risc crescut de complicații severe. Rezultatele studiului ar putea contribui la îmbunătățirea strategiilor de diagnostic, tratament și gestionare a pacienților cu COVID-19, inclusiv în comunitățile marginalizate, cum ar fi populația de romi din vestul României.

Ca **materiale și metode**, s-a aplicat o cercetare retrospectivă a pacienților spitalizați în Timișoara între martie 2020 și august 2022, conform bazei de date a Direcției de Sănătate Publică a Județului Timiș. Severitatea a fost estimată asemănător studiului precedent. S-au colectat date despre vârstă, sex, locație geografică, indicele de masă corporală (BMI), precum și obiceiurile legate de consumul de tutun și alcool. În ceea ce privește aspectele legate de COVID-19, s-au notat și starea de vaccinare și sursa de transmitere. În cadrul analizei de laborator, s-au investigat parametri precum CRP, FER, interleukina 6 (IL-6), D-dimerii, LDH, HDL și 25-OHD. Analiza statistică a urmărit același model ca studiul legat de vârstă.

Drept **rezultate**: studiul a inclus un total de 578 de pacienți, dintre care 144 (24,91%) erau de etnie romă și 434 (75,09%) erau români. Distribuția pe genuri a fost de 243 (42%) femei și 335 (58%) bărbați, iar vârsta mediană a fost de 57,52 ani. S-au observat diferențe semnificative între grupuri în ceea ce privește IMC-ul, locația și sursa de

transmitere, cu valori $p < 0,05$. Testul Spearman a relevat corelații semnificative între etnia romă și IMC-ul (directă slabă) și locul de origine rural (directă slabă). Pentru întregul eșantion, s-au înregistrat diferite grade de simptomatologie COVID-19, cu o proporție semnificativ mai mare de cazuri severe și critice în rândul pacienților de etnie romă. Totuși, nu au fost diferențe semnificative în ceea ce privește internarea în terapie intensivă sau mortalitatea între grupurile de etnie romă și non-romă. Un test de corelație a relevat o asociere foarte slabă între etnia romă și internarea în terapie intensivă, dar nu s-a găsit o corelație semnificativă între etnia romă și severitatea simptomelor.

S-au remarcat diferențe semnificative între CRP ($p = 0,0245$), IL-6 ($p < 0,0001$), HDL ($p = 0,0008$) și 25-hidroxivitamina D ($p = 0,0299$), primele două fiind mai ridicate în grupul de etnie romă, în timp ce celelalte două au fost mai scăzute. Rezultatele testului Spearman au indicat câteva corelații semnificative statistic cu etnia romă. CRP a prezentat o relație foarte slabă, IL-6 o relație slabă, HDL o relație slabă indirectă, iar 25-OHD o relație foarte slabă indirectă. Toate legăturile s-au dovedit a fi semnificative statistic în ceea ce privește severitatea. Anumite corelații au fost considerate directe și moderate: D-dimerii pentru romi și CRP, FER, D-dimerii pentru populația generală. Altele au fost considerate directe și puternice: CRP, IL-6, LDH pentru romi și IL-6, LDH pentru populația generală. Toate relațiile inverse au fost puternice. Se remarcă o diferență semnificativă între valorile rho pentru CRP și HDL între cele două grupuri, în timp ce celelalte au fost similare.

Analiza de regresie logistică multivariată a arătat că sexul masculin, vârsta înaintată și statusul de fumător au fost asociate semnificativ cu probabilitatea de internare în terapie intensivă și deces. Totuși, etnia nu a demonstrat o influență semnificativă în această analiză. Repartizat pe etnii, în legătură cu internarea în ATI, CRP-ul crescut a fost implicat în ambele grupuri, pe când lipsa creșterii HDL și 25-OHD a fost semnificativă doar în rândul populației generale. În raport cu decesul, CRP-ul crescut și lipsa creșterii 25-OHD au fost implicate în ambele grupuri, pe când lipsa creșterii HDL doar în rândul populației generale.

Rezultatele analizei ROC-AUC indică faptul că nivelurile de CRP au avut cea mai mare capacitate predictivă pentru internarea în terapie intensivă în rândul populației de etnie romă, cu o AUC de 0,985, sensibilitate de 93,33% și specificitate de 96,43%. Valoarea prag pentru acest grup a fost în jur de 28,98, ceea ce sugerează o precizie mai mare în detectarea necesității de internare în terapie intensivă. Deși nu au fost observate alte diferențe semnificative între grupuri, toate testele individuale ROC au fost statistic semnificative, având o AUC diferită de 0,5, demonstrând o oarecare capacitate predictivă la toți pacienții.

4.4. Discuții cu privire la impactul COVID-19 asupra lucrătorilor din domeniul sanitar și vulnerabilitatea generată de domeniul de activitate în partea de Vest a României

Până la începutul anului 2021, majoritatea țărilor europene au clasificat infecția cu SARS-CoV-2 drept boală profesională sau accident legat de muncă, cu România urmând această direcție până în februarie 2022. Totuși, doar o parte din cazurile de infectare ale personalului medical puteau fi legate direct de mediul medical, majoritatea fiind rezultatul transmiterii comunitare. Studiile au evidențiat rate variabile de incidență în rândul personalului medical, cu niveluri variate de spitalizare, internări în terapie intensivă și decese raportate [74].

Fiecare val al pandemiei a amplificat riscurile pentru personalul medical, cu o expunere crescută observată în fiecare val succesiv. La nivel global, datele de supraveghere indică mii de decese în rândul lucrătorilor din domeniul sănătății, cu estimări care sugerează că numărul real de decese ar putea fi subestimat semnificativ. În România, combaterea pandemiei a fost însoțită de provocări unice, inclusiv o acoperire scăzută a vaccinării din cauza unor factori precum probleme legislative, emigrarea personalului medical și infrastructura limitată în domeniul sănătății, mai ales în zonele rurale. În ciuda eforturilor de vaccinare care au vizat personalul medical cu risc ridicat încă din decembrie 2020, reticența față de vaccin a rămas o problemă, contribuind la dificultățile continue în gestionarea pandemiei printre lucrătorii din domeniul sănătății din România [49,74].

Studiul publicat în 2023 a investigat infecția și vaccinarea împotriva COVID-19 în rândul lucrătorilor din domeniul medical din zona vestică a României [49]. Analiza a arătat o asociere semnificativă între incidența COVID-19 înregistrată în toate categoriile de personal medical și evoluția pandemiei în comunitate, subliniind legătura între mediul medical și transmiterea virusului în societate. Personalul medical auxiliar și cel de nivel mediu au prezentat cele mai puternice corelații cu tendința pandemiei în comunitate, indicând o vulnerabilitate crescută la infecție. De asemenea, statutul socio-economic și nivelul de educație medicală au fost factori predictivi semnificativi pentru acceptarea vaccinării împotriva SARS-CoV-2 în rândul personalului medical, sugerând că cei cu un statut socio-economic mai ridicat și o pregătire medicală avansată au fost mai predispuși să se vaccineze.

S-a evidențiat că statutul de nevaccinare sau vaccinarea incompletă reprezintă un factor de risc independent pentru reinfectare cu COVID-19 în rândul personalului medical. În special, persoanele care au primit un număr mai mic de doze de vaccin au prezentat un risc crescut de reinfectare, în timp ce cei care au primit un număr mai mare de doze au avut un risc redus. Îngrijorător, respectarea suboptimală a dozelor de vaccin ulterioare a fost prevalentă în rândul personalului de nivel mediu și auxiliar, crescând susceptibilitatea acestora la infecțiile cu variante emergente, cum ar fi Omicron. Aceste constatări subliniază importanța continuă a eforturilor de vaccinare și a sprijinului pentru o acoperire vaccinală completă, pentru a reduce riscul de reinfectare și a consolida rezistența împotriva noilor amenințări din evoluția pandemiei COVID-19.

CONCLUZII

Lucrarea de față a avut tema de cercetare: „Impactul pandemiei cu SARS-COV-2 asupra pacienților din grupe vulnerabile din vestul României”. Această temă a fost aleasă atât datorită complexității pe care o posedă, dar și datorită dorinței arzătoare de a contribui la îmbunătățirea înțelegerii domeniului de cercetare prin prisma expansiunii cunoștințelor despre pandemia de COVID-19.

Pandemia COVID-19 a avut un impact devastator asupra sănătății și bunăstării populației globale. În vestul României, pacienții din grupurile vulnerabile au fost grav afectați, fiind mai susceptibili la forme severe de boală și la internarea în unitățile de terapie intensivă. Acest lucru se datorează prevalenței ridicate a comorbidităților, accesului limitat la serviciile de sănătate și condițiilor de viață care favorizează răspândirea virusului. Pe plan economic, pandemia a lovit puternic sectoarele economice, având un impact deosebit asupra celor cu venituri reduse și a grupurilor vulnerabile din vestul României, contribuind la creșterea sărăciei și insecurității alimentare.

Metoda secvențierii Nanopore s-a evidențiat ca o tehnică accesibilă și intuitivă, potrivită pentru implementare în laboratoare chiar și cu o expertiză limitată în secvențierea de nouă generație. Aceasta oferă o soluție robustă pentru supravegherea precisă și rapidă a răspândirii infecției COVID-19. Deși sensibilitatea sa este comparabilă cu cea a tehnologiei Ion Torrent, Nanopore prezintă avantaje notabile, inclusiv simplitatea în pregătirea eșantioanelor, capacitatea de analiză a datelor în timp real, costuri reduse și precizie înaltă a informațiilor furnizate. Aceste caracteristici fac din Nanopore o opțiune preferată pentru monitorizarea și gestionarea eficientă a situațiilor de urgență asociate cu COVID-19.

Mai mulți biomarkeri au fost identificați ca fiind utili pentru analiza severității, admiterea în terapie intensivă și mortalitatea asociată cu COVID-19. Printre aceștia, CRP a avut o corelație semnificativă cu rezultatele în toate grupele de vârstă, cu valori de prag care au fost mai mari pentru adulți decât pentru vârstnici. LDH a prezentat, de asemenea, o bună corelație cu rezultatele în toate grupele de vârstă, în special la adulți și vârstnici. În schimb, CK a avut utilitate limitată ca biomarker în evaluarea sănătății pacienților pediatriци cu COVID-19, deoarece valorile sale au fost în mare parte în limitele normale și nu au oferit rezultate semnificative de corelare. 25-OHD a fost un marker semnificativ pentru evaluarea severității, admiterea în terapie intensivă și mortalitate, în special la adulți. Ferritina a avut cea mai puternică corelație cu rezultatele în toate grupele de vârstă, cu o utilitate mai pronunțată la pacienții pediatriци și o utilitate puțin mai redusă la vârstnici. În plus, colesterolul HDL a prezentat corelații inverse consistente cu severitatea, admiterea în terapie intensivă și mortalitatea în toate grupurile studiate, consolidându-și valoarea ca biomarker predictiv.

Integrarea datelor de laborator în procesul de luare a deciziilor clinice permite profesioniștilor din domeniul sănătății să ofere îngrijire personalizată și eficientă pentru pacienții de etnie romă, contribuind astfel la gestionarea eficientă a pandemiei COVID-19. Legat de impactul asupra minorităților, s-a constatat că pacienții de etnie romă se confruntă cu multiple provocări, inclusiv supraponderalitatea, proveniența predominantă din zone rurale și dificultățile în identificarea sursei de transmitere a virusului. Acești pacienți erau internați mai frecvent în unitățile de terapie intensivă și prezentau simptome mai severe în comparație cu ceilalți. Analiza parametrilor de laborator la momentul internării a indicat că nivelurile de markeri inflamatori precum CRP și IL-6 erau semnificativ mai ridicate în rândul

pacienților de etnie romă, în timp ce nivelurile de colesterol HDL și 25-hidroxivitamina D erau mai scăzute. Aceste date sugerează că parametrii de laborator pot fi utili ca indicatori predictivi pentru internarea în terapie intensivă și mortalitate, iar CRP-ul a prezentat o sensibilitate mai mare în cazul pacienților de etnie romă. Cu toate acestea, este necesară realizarea de studii suplimentare și colectarea de date pentru a înțelege mai bine nevoile specifice ale acestor comunități și pentru a dezvolta intervenții mai eficiente în gestionarea pandemiei.

Corelația dintre incidența COVID-19 în rândul personalului medical și evoluția pandemiei subliniază complexitatea transmiterii virusului. Personalul medical auxiliar și de nivel intermediar necesită un training îmbunătățit în practici preventive, iar aderența la vaccinare, în special în rândul acestora, necesită o atenție crescută pentru a consolida protecția împotriva noilor variante ale virusului. În concluzie, pandemia cu SARS-CoV-2 a avut un impact semnificativ asupra pacienților din grupurile vulnerabile din vestul României, provocând consecințe devastatoare asupra sănătății, economiei și bunăstării sociale

BIBLIOGRAFIE

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536-544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z;
2. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020;91(1):157-160. doi:10.23750/abm.v91i1.9397
3. Tanne JH, Hayasaki E, Zastrow M, Pulla P, Smith P, Rada AG. Covid-19: how doctors and healthcare systems are tackling coronavirus worldwide. *BMJ.* 2020;368:m1090. doi:10.1136/bmj.m1090;
4. Karabag, S. F. An unprecedented global crisis! The global, regional, national, political, economic and commercial impact of the coronavirus pandemic. *Journal of Applied Economics and Business Research*; 2020; 10(1): 1-6;
5. Tai DBG, Shah A, Doubeni CA, Sia IG, Wieland ML. The Disproportionate Impact of COVID-19 on Racial and Ethnic Minorities in the United States. *Clin Infect Dis.* 2021;72(4):703-706. doi:10.1093/cid/ciaa815;
6. Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):3-11.;
7. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 [published correction appears in *Nat Rev Microbiol.* 2022 May;20(5):315]. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):141-154. doi:10.1038/s41579-020-00459-7;
8. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14(4):407-412. doi:10.1016/j.dsx.2020.04.020;
9. Wang Q, Zhang Y, Wu L, et al. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell.* 2020;181(4):894-904.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.03.045;
10. Senapati S, Banerjee P, Bhagavatula S, Kushwaha PP, Kumar S. Contributions of human ACE2 and TMPRSS2 in determining host-pathogen interaction of COVID-19. *J Genet.* 2021;100(1):12. doi:10.1007/s12041-021-01262-w
11. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020;181(2):271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052;
12. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022;23(1):3-20. doi:10.1038/s41580-021-00418-x;
13. Islam MA, Alam SS, Kundu S, Hossan T, Kamal MA, Cavestro C. Prevalence of Headache in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review and Meta-Analysis of 14,275 Patients. *Front Neurol.* 2020;11:562634. Published 2020 Nov 27. doi:10.3389/fneur.2020.562634
14. Islam MA, Kundu S, Alam SS, Hossan T, Kamal MA, Hassan R. Prevalence and characteristics of fever in adult and paediatric patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 17515 patients. *PLoS One.* 2021;16(4):e0249788. doi:10.1371/journal.pone.0249788;
15. Oran DP, Topol EJ. The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic : A Systematic Review. *Ann Intern Med.* 2021;174(5):655-662. doi:10.7326/M20-6976;
16. Li Y, Ji D, Cai W, et al. Clinical characteristics, cause analysis and infectivity of COVID-19 nucleic acid repositive patients: A literature review [published correction appears in *J Med Virol.* 2022 Mar;94(3):1247]. *J Med Virol.* 2021;93(3):1288-1295. doi:10.1002/jmv.26491;
17. Sykes DL, Holdsworth L, Jawad N, Gunasekera P, Morice AH, Crooks MG. Post-COVID-19 Symptom Burden: What is Long-COVID and How Should We Manage It?. *Lung.* 2021;199(2):113-119. doi:10.1007/s00408-021-00423-z;
18. Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *Eur J Intern Med.* 2020;76:14-20. doi:10.1016/j.ejim.2020.04.037;
19. Gasmi A, Peana M, Pivina L, et al. Interrelations between COVID-19 and other disorders. *Clin Immunol.* 2021;224:108651. doi:10.1016/j.clim.2020.108651
20. Gallo Marin B, Aghagoli G, Lavine K, et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Rev Med Virol.* 2021;31(1):1-10. doi:10.1002/rmv.2146;
21. Djaharuddin I, Munawwarah S, Nurulita A, Ilyas M, Tabri NA, Lihawa N. Comorbidities and mortality in COVID-19 patients. *Gac Sanit.* 2021;35 Suppl 2:S530-S532. doi:10.1016/j.gaceta.2021.10.085;
22. Müller-Wieland D, Marx N, Dreher M, Fritzen K, Schnell O. COVID-19 and Cardiovascular Comorbidities. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2022;130(3):178-189. doi:10.1055/a-1269-1405;
23. Govender N, Khaliq OP, Moodley J, Naicker T. Insulin resistance in COVID-19 and diabetes. *Prim Care Diabetes.* 2021;15(4):629-634. doi:10.1016/j.pcd.2021.04.004
24. Wang CC, Prather KA, Sznitman J, et al. Airborne transmission of respiratory viruses. *Science.* 2021;373(6558):eabd9149. doi:10.1126/science.abd9149;
25. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, et al. SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms [published correction appears in *JAMA Netw Open.* 2021 Feb 1;4(2):e211383]. *JAMA Netw Open.* 2021;4(1):e2035057. Published 2021 Jan 4. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.35057;
26. Meng XJ, Liang TJ. SARS-CoV-2 Infection in the Gastrointestinal Tract: Fecal-Oral Route of Transmission for COVID-19?. *Gastroenterology.* 2021;160(5):1467-1469. doi:10.1053/j.gastro.2021.01.005;
27. Citu C, Neamtu R, Sorop VB, et al. Assessing SARS-CoV-2 Vertical Transmission and Neonatal Complications. *J Clin Med.* 2021;10(22):5253. Published 2021 Nov 11. doi:10.3390/jcm10225253;

28. Mercer TR, Salit M. Testing at scale during the COVID-19 pandemic. *Nat Rev Genet.* 2021;22(7):415-426. doi:10.1038/s41576-021-00360-w;
29. Salehi S, Abedi A, Balakrishnan S, Gholamrezanezhad A. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review of Imaging Findings in 919 Patients. *AJR Am J Roentgenol.* 2020;215(1):87-93. doi:10.2214/AJR.20.23034
30. Şimşek-Yavuz S, Komsuoğlu Çelikyurt FI. An update of anti-viral treatment of COVID-19. *Turk J Med Sci.* 2021;51(SI-1):3372-3390. Published 2021 Dec 17. doi:10.3906/sag-2106-250
31. Gavriatopoulou M, Ntanasios-Stathopoulos I, Korompoki E, et al. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clin Exp Med.* 2021;21(2):167-179. doi:10.1007/s10238-020-00671-y
32. Conti P, Pregliasco FE, Calvisi V, et al. Monoclonal antibody therapy in COVID-19. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2021;35(2):423-427. doi:10.23812/Conti_Edit_35_2_1
33. Ciotti M, Ciccozzi M, Pieri M, Bernardini S. The COVID-19 pandemic: viral variants and vaccine efficacy. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2022;59(1):66-75. doi:10.1080/10408363.2021.1979462
34. Kobusiak-Prokopowicz M, Fułek K, Fułek M, et al. Cardiovascular, Pulmonary, and Neuropsychiatric Short- and Long-Term Complications of COVID-19. *Cells.* 2022;11(23):3882. Published 2022 Dec 1. doi:10.3390/cells11233882
35. Mohamadi Yarijani Z, Najafi H. Kidney injury in COVID-19 patients, drug development and their renal complications: Review study. *Biomed Pharmacother.* 2021;142:111966. doi:10.1016/j.biopha.2021.111966
36. Merad M, Blish CA, Sallusto F, Iwasaki A. The immunology and immunopathology of COVID-19. *Science.* 2022;375(6585):1122-1127. doi:10.1126/science.abm8108
37. Erdinc B, Sahni S, Gotlieb V. Hematological manifestations and complications of COVID-19. *Adv Clin Exp Med.* 2021;30(1):101-107. doi:10.17219/acem/130604
38. Esmaeilzadeh A, Elahi R, Siahmansouri A, Maleki AJ, Moradi A. Endocrine and metabolic complications of COVID-19: lessons learned and future prospects. *J Mol Endocrinol.* 2022;69(3):R125-R150. Published 2022 Aug 24. doi:10.1530/JME-22-0036
39. Davis HE, McCorkell L, Vogel JM, Topol EJ. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations [published correction appears in *Nat Rev Microbiol.* 2023 Jun;21(6):408]. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(3):133-146. doi:10.1038/s41579-022-00846-2
40. Santacroce L, Bottalico L, Charitos IA. The Impact of COVID-19 on Italy: A Lesson for the Future. *Int J Occup Environ Med.* 2020;11(3):151-152. doi:10.34172/ijoem.2020.1984;
41. Talic S, Shah S, Wild H, et al. Effectiveness of public health measures in reducing the incidence of covid-19, SARS-CoV-2 transmission, and covid-19 mortality: systematic review and meta-analysis [published correction appears in *BMJ.* 2021 Dec 3;375:n2997]. *BMJ.* 2021;375:e068302. Published 2021 Nov 17. doi:10.1136/bmj-2021-068302;
42. Liu Y, Liu J, John,son BA, et al. Delta spike P681R mutation enhances SARS-CoV-2 fitness over Alpha variant. Preprint. *bioRxiv.* 2021;2021.08.12.456173. Published 2021 Sep 5. doi:10.1101/2021.08.12.456173;
43. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102433. doi:10.1016/j.jaut.2020.102433;
44. Yanez ND, Weiss NS, Romand JA, Treggiari MM. COVID-19 mortality risk for older men and women. *BMC Public Health.* 2020;20(1):1742. Published 2020 Nov 19. doi:10.1186/s12889-020-09826-8;
45. Saceleanu V, Moreanu MS, Covache-Busioc RA, Mohan AG, Ciurea AV. SARS-COV-2 - the pandemic of the XXI century, clinical manifestations - neurological implications. *J Med Life.* 2022;15(3):319-327. doi:10.25122/jml-2020-0151;
46. Zhang JJ, Dong X, Liu GH, Gao YD. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023;64(1):90-107. doi:10.1007/s12016-022-08921-5
47. Voda M, Murgu A, Sarpe CA, Graves SM, Avram C. The Ţigani Community Adaptability to Changes in Rural Romania and the COVID-19 Impact. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(20):10622. Published 2021 Oct 11. doi:10.3390/ijerph182010622;
48. Mitrică B, Mocanu I, Grigorescu I, et al. Population Vulnerability to the SARS-CoV-2 Virus Infection. A County-Level Geographical-Methodological Approach in Romania. *Geohealth.* 2021;5(11):e2021GH000461. Published 2021 Nov 1. doi:10.1029/2021GH000461
49. Gal-Nădăşan E-G, Popescu I-M, Bădiţoiu L, Gal-Nădăşan N, Cioca F, Popovici ED, et al. Healthcare Workers' vulnerability to SARS-COV-2 in western Romania: A study on incidence and risk factors for non-vaccination and reinfection. *International Journal of General Medicine.* 2023;16:5621–32. doi:10.2147/ijgm.s442098
50. Popescu GC, Popescu M. COVID-19 pandemic and agriculture in Romania: effects on agricultural systems, compliance with restrictions and relations with authorities. *Food Secur.* 2022;14(2):557-567. doi:10.1007/s12571-021-01239-8
51. Meliţ LE, Mărginean CO, Fleşeriu T, Văsieşiu AM, Ghiga DV, Koller AR. COVID-19 and PIMS-Two Different Entities, but the Same Trigger. *Children (Basel).* 2022;9(9):1348. Published 2022 Sep 4. doi:10.3390/children9091348
52. Manolescu LSC, Zaharia CN, Dumitrescu AI, et al. COVID-19 Parental Vaccine Hesitancy in Romania: Nationwide Cross-Sectional Study. *Vaccines (Basel).* 2022;10(4):493. Published 2022 Mar 23. doi:10.3390/vaccines10040493
53. Kim J, Blaum C, Ferris R, et al. Factors associated with hospital admission and severe outcomes for older patients with COVID-19. *J Am Geriatr Soc.* 2022;70(7):1906-1917. doi:10.1111/jgs.17718
54. Birhanu A, Ayana GM, Bayu M, Mohammed A, Dessie Y. Features associated with SARS-COV-2 positivity among people presenting with acute respiratory tract infections to public Hospitals in Harari region, Ethiopia. *SAGE Open Med.* 2021;9:20503121211062793. Published 2021 Dec 10. doi:10.1177/20503121211062793

55. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2021;397(10285):1637-1645. doi:10.1016/S0140-6736(21)00676-0
56. Alsaffar WA, Alwesaibi AA, Alhaddad MJ, et al. The Effectiveness of COVID-19 Vaccines in Improving the Outcomes of Hospitalized COVID-19 Patients. *Cureus*. 2022;14(1):e21485. Published 2022 Jan 22. doi:10.7759/cureus.21485
57. Bray I, Gibson A, White J. Coronavirus disease 2019 mortality: a multivariate ecological analysis in relation to ethnicity, population density, obesity, deprivation and pollution. *Public Health*. 2020;185:261-263. doi:10.1016/j.puhe.2020.06.056
58. Watkinson RE, Williams R, Gillibrand S, Sanders C, Sutton M. Ethnic inequalities in COVID-19 vaccine uptake and comparison to seasonal influenza vaccine uptake in Greater Manchester, UK: A cohort study [published correction appears in *PLoS Med*. 2022 Apr 22;19(4):e1003982]. *PLoS Med*. 2022;19(3):e1003932. Published 2022 Mar 3. doi:10.1371/journal.pmed.1003932
59. Bull, R.A.; Adikari, T.N.; Ferguson, J.M.; Hammond, J.M.; Stevanovski, I.; Beukers, A.G.; Naing, Z.; Yeang, M.; Verich, A.; Gamaarachchi, H.; et al. Analytical validity of nanopore sequencing for rapid SARS-CoV-2 genome analysis. *Nat. Commun*. 2020, 11, 6272
60. Pater, A.A.; Bosmeny, M.S.; White, A.A.; Sylvain, R.J.; Eddington, S.B.; Parasrampur, M.; Ovington, K.N.; Metz, P.E.; Yinusa, A.O.; Barkau, C.L.; et al. High throughput nanopore sequencing of SARS-CoV-2 viral genomes from patient samples. *J. Biol. Methods* 2021, 8, e155.
61. Chiara, M.; D'Erchia, A.M.; Gissi, C.; Manzari, C.; Parisi, A.; Resta, N.; Zambelli, F.; Picardi, E.; Pavesi, G.; Horner, D.S.; et al. Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: Challenges, applications and opportunities. *Brief. Bioinform*. 2021, 22, 616–630.
62. Quick, J.; Grubaugh, N.D.; Pullan, S.T.; Claro, I.M.; Smith, A.D.; Gangavarapu, K.; Oliveira, G.; Robles-Sikisaka, R.; Rogers, T.F.; Beutler, N.A.; et al. Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat. Protoc*. 2017, 12, 1261–1276.
63. Quick J. nCoV-2019 sequencing protocol v3 (LoCost). www.protocols.io. 2020 Aug 25; Available from: <https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-v3-locost-bp2l6n26rgqe/v3> accesat pe 12.12.2023
64. Davis, J.J.; Long, S.W.; Christensen, P.A.; Olsen, R.J.; Olson, R.; Shukla, M.; Subedi, S.; Stevens, R.; Musser, J.M. Analysis of the ARTIC version 3 and version 4 SARS-CoV-2 primers and their impact on the detection of the G142D amino acid substitution in the spike protein. *Microbiol. Spectr*. 2021, 9, e01803-21.
65. Tshiabula, D.; Giandhari, J.; Pillay, S.; Ramphal, U.; Ramphal, Y.; Maharaj, A.; Anyaneji, U.J.; Naidoo, Y.; Tegally, H.; San, E.J.; et al. Comparison of SARS-CoV-2 sequencing using the ONT GridION and the Illumina MiSeq. *BMC Genom*. 2022, 23, 319.
66. Tyson, J.R.; James, P.; Stoddart, D.; Sparks, N.; Wickenhagen, A.; Hall, G.; Choi, J.H.; Lapointe, H.; Kamelian, K.; Smith, A.D.; et al. Improvements to the ARTIC multiplex PCR method for SARS-CoV-2 genome sequencing using nanopore. *BioRxiv*. 2020.
67. Shen Y, Khatri B, Rananaware S, Li D, Ostrov DA, Jain PK, et al. Ancestral origins are associated with SARS-COV-2 susceptibility and protection in a Florida patient population. *PLOS ONE*. 2023 Jan 17;18(1). doi:10.1371/journal.pone.0276700.
68. Singh U, Hernandez KM, Aronow BJ, Wurtele ES. African Americans and European Americans exhibit distinct gene expression patterns across tissues and tumors associated with immunologic functions and environmental exposures. *Scientific Reports*. 2021 May 10;11(1). doi:10.1038/s41598-021-89224-1.
69. Bagiu IC, Scurtu IL, Horhat DI, Mot IC, Horhat RM, Bagiu RV, et al. Covid-19 inflammatory markers and vitamin D relationship in pediatric patients. *Life*. 2022;13(1):91. doi:10.3390/life13010091
70. Musat O, Sorop VB, Sorop MI, Lazar V, Marti DT, Susan M, Avram CR, Oprisoni A, Vulcanescu DD, Horhat FG, et al. COVID-19 and Laboratory Markers from Romanian Patients—A Narrative Review. *Life*. 2023; 13(9):1837. <https://doi.org/10.3390/life13091837>
71. Magesh S, John D, Li WT, et al. Disparities in COVID-19 Outcomes by Race, Ethnicity, and Socioeconomic Status: A Systematic-Review and Meta-analysis [published correction appears in *JAMA Netw Open*. 2021 Dec 1;4(12):e2144237] [published correction appears in *JAMA Netw Open*. 2022 Feb 1;5(2):e222170]. *JAMA Netw Open*. 2021;4(11):e2134147. Published 2021 Nov 1. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.34147.
72. Voda M, Kithia S, Jackiewicz E, Du Q, Sarpe CA. Geosystems' Pathways to the Future of Sustainability. *Sci Rep*. 2019;9(1):14446. Published 2019 Oct 8. doi:10.1038/s41598-019-50937-z
73. TOMLINSON, ELENA. "The" Palaces" of the Romanian Roma: A Claim to Citizenship." *Traditional Dwellings and Settlements Review* (2007): 77-90.
74. Ferland L, Carvalho C, Gomes Dias J, Lamb F, Adlhoj C, Suetens C, et al. Risk of hospitalization and death for healthcare workers with COVID-19 in nine European countries, January 2020–January 2021. *Journal of Hospital Infection*. 2022 Jan;119:170–4.